

# RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION HOORN.

---

## Over karnemelkschifting

DOOR

H. A. SIRKS.

(Ingezonden 5 Juni 1929).

---

### *Inleiding.*

Bij het bewaren van karnemelk treedt daarin somtijds na korteren of langeren tijd eene ontmenging op, eene grove scheiding in caseïne en min of meer troebel serum. Zooals uit de mededeelingen van den Rijkszuivelconsulent voor Overijssel en anderen is gebleken, veroorzaakt dit verschijnsel, „karnemelkschifting”<sup>1)</sup> genoemd, aan sommige fabrieken nu en dan veel last; vooral voor inrichtingen, waar de karnemelk in flesschen wordt getapt, kan het daarin somtijds optredende gebrek zeer hinderlijk zijn. Deze mededeelingen gaven dan ook aanleiding tot het instellen van een nader onderzoek, waarvan de voornaamste resultaten hieronder zijn weergegeven.

„Karnemelkschifting” kan in zeer verschillenden vorm optreden. Zoo kan zij zich voordoen als een gelijkmatige bezinking der caseïne, waarbij zich eene langzaam in hoogte toenemende serumlaag aan de oppervlakte afscheidt, welk verschijnsel men „oppervlakeschifting” of „bezinking” der karnemelk kan noemen. Ook kan de schifting minder gelijkmatig en op verschillende diepte in de karnemelk optreden, waarbij eene min of meer onregelmatige verdeling in caseïne en serum zichtbaar wordt, wanneer die karnemelk in een glazen vat wordt bewaard; ook wel stijgt de caseïne gelijkmatig van den bodem van het vat omhoog en wordt onderin een laag serum zichtbaar. Dezen vorm van schifting kunnen we „inwendige schifting” noemen; zij kan soms reeds binnen enkele uren na het karnen optreden en zóó intensief worden, dat de karnemelk tenslotte bestaat uit eene, deels in het serum drijvende, deels daarin bezonken, brokkelige caseïnemassa.

Het is duidelijk, dat vooral in de laatstgenoemde gevallen de karnemelk, wanneer zij zich in flesschen bevindt, een zeer onooglijk en bedorven uiterlijk

---

1) De hierbedoelde ontmenging bij gewone temperatuur wordt in de zuivelpraktijk „schifting” genoemd, hoewel deze uitdrukking het verschijnsel eigenlijk niet juist weergeeft en met meer recht wordt toegepast op hetgeen gebeurt, wanneer karnemelk sterk wordt verhit of gekookt. Bij het dan intredende bekende verschijnsel verkrijgt de samenballende caseïne in zoo sterke mate een blijvend grovere structuur, dat met recht van een „schifting” gesproken kan worden; bij de eerstgenoemde veranderingen is dit in veel minder sterke mate het geval. Het eigenlijke wetenschappelijke begrip „schiften” omvat bij melkzuring het voor het bloote oog zichtbaar worden van een phase tengevolge van de uitvlokking der caseïne.

verkrijgt, en ook al zijn — wat zeer goed mogelijk is — reuk en smaak der karnemelk nog normaal, zij niet meer in consumptie gebracht kan worden.

Onderzoekingen van eenigen omvang over de oorzaken der karnemelkschifting zijn in ons land, voor zoover mij bekend, niet gepubliceerd; ook in de buitenlandse literatuur is er slechts weinig over te vinden. Wel zijn er in Amerika proeven genomen met een op karnemelk gelijkend product, dat door „karnen” van gepasteuriseerde en gezuurde ondermelk wordt bereid en als „handelskarnemelk” of „kunstmatige karnemelk” bij groote hoeveelheden in consumptie wordt gebracht. Nu schijnt men bij dit product veel last te ondervinden van schiftingsverschijnselen, waarvan men dan ook de mogelijke oorzaken heeft trachten op te sporen. Prof. A. D. BURKE<sup>2)</sup> van het Stillwater Agric. Exp. Station (Oklahoma) kwam tot de conclusie, dat een te lage of te hooge zuurheidsgraad van de ondermelk en eene te heftige karnbeweging, waarbij sterk schuimen kan optreden, factoren zijn, die de latere schifting in de hand werken. Ook de aanwezigheid van gasvormende bacteriën in de zurende ondermelk zou hiervoor bevorderlijk zijn. Als een middel om schifting tegen te gaan noemt hij de toevoeging van 0.25 % tot 0.50 % gelatine aan de ondermelk vóór of na de pasteurisatie. Een bezwaar hierbij was echter, dat de „handelskarnemelk” hierdoor dikwijls een abnormalen reuk en smaak verkreeg.

Een andere onderzoeker, G. KNAYS<sup>3)</sup>, Cornell Exp. Stat. Ithaca (New-York) vond, dat een snelle zuring van de ondermelk (bij 37° C.) dikwijls een schiftende (bezinkende) kunstmatige karnemelk opleverde, wat hij hieraan toeschreef, dat de capillaire kanaaltjes in de coaguleerende caseïne-massa minder serum zouden kunnen opzuigen en vasthouden dan bij een minder snel verlopend zuringsproces; een minder gelijkmatige, minder zachte wrongel zou hiervan het gevolg zijn, die, fijn gemaakt, sneller zou bezinken. Hij kon door toevoeging van kleine hoeveelheden natriumzouten aan de te zuren ondermelk de vorming van een gelijkmatig gelatineus coagulum bevorderen en daaruit een „karnemelk” met fijnere caseïnedeeftjes verkrijgen, die daardoor minder schifte. Deze werking der natriumzouten schreef hij toe aan de vorming van sterk gedissocieerd natriumcaseïnaat met hooge viscositeit. Ook hier was de toepassing van dit middel beperkt door de spoedig optredende benadeeling van den smaak van het eindproduct.

Dat ongewenschte werking van micro-organismen aanleiding kan geven tot inwendige schifting van zurende melk, bleek uit een onderzoek van Mc. KAY en ECKLES<sup>4)</sup>, Iowa Exp. Stat. Bij spontane zuring van verschillende soorten melk in glazen, bleken alleen die melkmonsters, waarin zich bacteriën ontwikkelden, welke tot een minder aangename reuk en smaak aanleiding gaven, serumafscheiding onder in het glas te vertoonen, terwijl bij goede zuring op den duur alleen eenig serum boven in het glas zichtbaar werd. Deze eigenschap der melk, om bij ongewenschte bacteriëngroei inwendig te schiften, werd door de genoemde onderzoekers gebruikt om melk uit te zoeken, welke voor de bereiding van goed zuursel geschikt was.

2) The Milk Dealer. Vol. 10 (1921), pg. 2. (Refer in het Offic. Org. van den F. N. Z. 1921 no. 795). Exper. Stat. Records. Vol. 55 (1926), pg. 172; Vol. 57 (1927), pg. 373.

3) Journ. of Agricult. Research. Vol. 34 (1927), pg. 771.

4) Mc KAY and LARSEN, Principles and Practise of Buttermaking, 3d Ed. 1922, pg. 217.

Wat het optreden van schiftingsverschijnselen in de eigenlijke, van gezuurde room afkomstige karnemelk betreft, over de oorzaken daarvan is nog maar weinig bekend en de practici in ons land, die van dit gebrek af en toe last ondervinden, zijn het daarover dan ook lang niet altijd eens, evenmin als over de middelen om dit euvel te bestrijden <sup>5)</sup>. Wel wordt veelal aangenomen, dat onvoldoend gezuurde room dikwijls schiftende karnemelk geeft en dat het gebrek in den zomer het meest voorkomt, doch op andere punten heerscht weer minder eenstemmigheid. Zoo wordt door sommigen een lage, door anderen een hooge karntemperatuur als oorzaak beschouwd; ook is men het er niet over eens, of het door pompen verplaatsen der karnemelk het schiften kan veroorzaken. Een in vele gevallen goed werkend middel om het gebrek tegen te gaan schijnt te zijn: het direct en voortdurend langzaam doorroeren van de in een reservoir verzamelde verse karnemelk; de kans op latere schifting van de gedistribueerde karnemelk bleek volgens de ervaringen in de zuivelfabrieken opgedaan, daardoor veel te verminderen. Toch schijnt ook dit middel niet altijd te helpen. Afdoende maatregelen zullen ook slechts mogelijk zijn, wanneer zij op deugdelijken theoretischen grondslag berusten. In de eerste plaats dient onderzocht te worden, hoe het ontstaan der verschillende vormen van schifting eigenlijk moet verklaard worden en welke physische en chemische factoren daarbij een voorname rol spelen. Het in de volgende bladzijden meegedeelde onderzoek moge beschouwd worden als eene poging om in dit opzicht wat meer licht te verschaffen.

#### I. *Inrichting der proeven over de karnemelkschifting.*

Bij het instellen van een onderzoek naar den aard en het ontstaan van karnemelkschifting zou er natuurlijk veel voor te zeggen zijn, dit te beginnen bij een aantal typische gevallen van schifting in de praktijk verkregen. Nu doet zich echter de moeilijkheid voor, dat zulk materiaal slechts nu en dan op ver uiteen liggende plaatsen zou zijn te verkrijgen en liefst ter plaatse en direct na de bereiding zou moeten worden onderzocht, wat niet doenlijk zou zijn. Daarom werd dan ook in het algemeen een andere weg gekozen en uitgegaan in de eerste plaats van de aan de boterfabriek van de Proefzuivelboerderij alhier dagelijks bereide karnemelk, welke doorgaans in den gewonen zin als normaal en niet schiftend kan worden beschouwd.

Nagegaan werd nu door een reeks proefnemingen, op welke wijze zulke normale karnemelk wellicht kon veranderd worden in karnemelk met hetzij „oppervlakteschifting”, hetzij „inwendige schifting”, waarna verder verschillende eigenschappen van zulke veranderde karnemelk met die van de oorspronkelijke konden worden vergeleken.

Een tweede weg, die werd ingeslagen, was, dat getracht werd uit room van de proefzuivelfabriek met behulp van kleine laboratoriumkarns karnemelk te bereiden, onder zoodanig gewijzigde omstandigheden, dat naar willekeur al of niet schiftende karnemelk zou kunnen verkregen worden.

5) Vele waardevolle inlichtingen over de ervaringen in de zuivelpraktijk op dit gebied zijn ons door bemiddeling van den Heer F. KEESTRA, Leeraar-Technicus van den Bond van Coöp. Zuivelfabrieken in Friesland, verstrekt, alsook door de Rijkszuivelconsulenten van verschillende provinciën. Aan allen, die hiertoe medewerkten, zij hier onze hartelijke dank betuigd.

Tenslotte werden ook met grootere hoeveelheden room en karnemelk in de boterfabriek enkele proeven uitgevoerd naar aanleiding van de op kleine schaal in het laboratorium verkregen uitkomsten.

## II. *Oppervlakteschifting.*

In de eerste plaats werd het verschijnsel, dat als „oppervlakteschifting” of „bezinking” werd aangeduid, bestudeerd. Hierbij dient opgemerkt te worden, dat alle normale karnemelk op den duur bij rustig staan een serumlaagje aan de oppervlakte gaat vertoonen; echter kan men niet van eigenlijke schifting spreken, als dit verschijnsel zoo onbeteekenend is, dat na 24 u. staan bij matige temperatuur slechts een serumlaagje van enkele procenten van de totale karnemelk tot afscheiding komt. Eigenaardig is, dat de vorm van het vat, waarin de karnemelk wordt bewaard, van veel invloed is. Zoo zal in een cylindrisch vat of cylindrisch gedeelte van een vat de bezinking van een bepaalde karnemelk eerst later zichtbaar worden dan in een naar boven conisch toeloopend vat (bijv. een melkflesch) en zal zich bovenin een verticaal geplaatst cylinderglas in den zelfden tijd zich minder serum afscheiden dan in een daarnaast scheef opgestelde cylinder van dezelfde afmetingen. De oorzaak hiervan is volgens BANCROFT <sup>6)</sup>, dat bij niet-verticale wanden zich bovenaan de grenslaag tusschen glas en karnemelk gemakkelijk kanalen gaan vormen, die weldra caseïne-vrij zijn, waardoor het serum, dat door de bezinkende massa wordt verplaatst, gemakkelijker een uitweg naar boven kan vinden dan bij een vat met zuiver verticale wanden.

Alle metingen van bezinkingen werden daarom in verticaal geplaatste maatcylinders uitgevoerd, bij vergelijkende proeven in cylinders van gelijke afmetingen en van niet te kleinen diameter om een mogelijk storenden invloed van de wanden te ontgaan. Zeer geschikt zijn hiervoor maatcylinders van 250 cc. en 100 cc. van laag model, met een diameter van resp. 5 en  $3\frac{1}{2}$  c.M.

Verschillende factoren, waarvan vermoed werd, dat zij de bezinking zouden kunnen beïnvloeden, werden onderzocht; in de eerste plaats de concentratie der caseïnebestanddeelen, welke bij verschillende karnemelken zeer uiteen kan loopen. Nagegaan werd de invloed van wijzigingen hierin door watertoevoeging, door verdunning met karnemelkfiltraat en door uit de fabriekskarn de laatst aflopende karnemelk apart op te vangen, die, zooals bekend is, tengevolge van het uitzeven door de botermassa een lager eiwitgehalte heeft dan de gemengde karnemelk.

In tabel I zijn vereenigd de bezinkingscijfers (uitgedrukt in honderdsten van de totale hoogte der vloeistofkolom), verkregen na verschillende tijden staan bij laboratoriumtemperatuur ( $16^{\circ}$ — $20^{\circ}$ ) van gewone gemengde karnemelk van de boterfabriek der Proefzuivelboerderij zonder en met 10 %, resp. 20 % extra toegevoegd water, en daarnaast van de laatst aflopende karnemelk uit dezelfde karn afkomstig, eveneens zonder en met 10 % en 20 % later toegevoegd water. Het totaal eiwitgehalte van de gemengde karnemelk was 2,53 %, van de laatste afloop slechts 1,49 %.

6) BANCROFT, Applied colloid Chemistry 1921. General theory, pg. 193.

TABEL I.

Bezinking der caseïne na:	Gemengde karnemelk.			Laatste afloop uit de karn.		
	geen water.	10% water.	20% water.	geen water.	10% water.	20% water.
6 uur . . . . .	0	1	2	3	2	4
24 „ . . . . .	1	2	3	10	17	19
2 dagen. . . . .	2	7	6	21	31	35
3 „ . . . . .	2	10	8	28	40	46

Terwijl de bezinking in de gemengde karnemelk zelfs in 3 dagen nog onbeduidend is, kan men bij den „laatsten afloop” reeds binnen 24 uur een niet onbelangrijke „oppervlakteschifting” constateeren. Een watertoevoeging van 10 of 20 % had in het eerste geval na 24 uur nog weinig invloed, doch wordt na 2 en 3 dagen duidelijk merkbaar; de laatste afloop is in dit opzicht veel gevoeliger.

Bij een volgende proef werd de invloed der toevoeging van gelijke hoeveelheden karnemelkserum en van water met elkaar vergeleken. In het eerste geval bleef de concentratie der opgeloste karnemelkbestanddeelen in het caseïnevrije gedeelte dus dezelfde.

In tabel II zijn de gevonden bezinkingscijfers aangegeven.

TABEL II.

Bezinking in de karnemelk bij 16°—17°.	Oorspron- kelijke karnemelk.	Karnemelk met eene hoeveelheid serum van:			Karnemelk met eene hoeveelheid water van:		
		10%.	20%.	30%.	10%.	20%.	30%.
na 1 dag . . .	2	3½	4	7½	4	5	9
„ 2 dagen . .	6	8	12	18	10	13	20
„ 3 „ . . .	8½	12	18	26	12½	18	28

Zooals te verwachten was, heeft de toevoeging van een zekere hoeveelheid serum een iets minder sterken invloed op de bezinking dan van een zelfde hoeveelheid water, dat de viscositeit iets meer verlaagt. Duidelijk blijkt echter uit tabel I en II, dat, hoe grooter de verdunning, dus hoe lager het caseïnegehalte is, hoe sterker de schifting optreedt.

Men zal dus in sommige tijden van het jaar, wanneer het eiwitgehalte der melk laag is, eerder schifting kunnen verwachten, dus voorzichtiger moeten zijn met het gebruik van inspoelwater.

Ook het naar omstandigheden meer of minder „uitzeven” der eiwitbestanddeelen door de afgekarnde botermassa zal op eventueele schifting van invloed kunnen zijn.

Een tweede factor, die veel invloed uitoefent op de oppervlakteschifting is de temperatuur, waarbij de karnemelk bewaard wordt.

Hier volgen eenige cijfers, die de bezinking aangeven van normale karnemelk, waarbij nog 10 % extra-water was gevoegd, en die bij de in tabel III aangegeven temperatuur in wijde maatcylinders van 250 cc. werd weggezet.

TABEL III.

Bezinking in honderdsten na:	7°—9°.	13.5°—14.5°.	20°.
1 dag . . . . .	0.5	1.5	2
2 dagen. . . . .	2.5	4	7
3 " . . . . .	3	6	11
4 " . . . . .	4	9	14.5

Men ziet dat deze karnemelk, niettegenstaande haar hoog watergehalte, zeer weinig verandert, wanneer zij bij lage temperatuur wordt bewaard, terwijl bij 20° na 2 dagen zich reeds een aanzienlijke serumlaag heeft afgescheiden.

Als oorzaak van dit verschijnsel ligt wel het meest voor de hand het verschil in viscositeit, die bij 20° merkbaar kleiner is dan bij 7°—9°. Zooals we later zullen zien, treedt bij 20° echter een sterk storende invloed op, de z.g. vlokvorming. Verder kan eene temperatuursverhooging blijvende veranderingen in de karnemelk veroorzaken, zooals verhooging van het S.G. der caseinedeeltjes door wateronttrekking (dehydratie) en een snellere zuurheidsgraad-verhooging. Beide factoren moeten dus nader worden onderzocht.

In de eerste plaats werd de invloed van eene korte, matige verwarming der karnemelk nagegaan. Er werden 4 gelijke porties normale verse karnemelk, A, B, C en D, in 4 kolfjes afgemeten. A werd op 18° gebracht en gehouden, B, C en D werden resp. snel op 22°, 26° en 30° verwarmd en 5 minuten op die temperatuur gehouden, daarna snel op 18° afgekoeld. Met de aldus behandelde porties werden 4 gelijke cylindere gevuld en het bezinkingscijfer bepaald na 19 uur staan bij 18°.

Bij de niet boven 18° verwarmde karnemelk bedroeg de bezinking toen 1 %; bij de op 22°, 26° en 30° verwarmde resp. 2 %, 3 % en 7 %, na dooreen mengen van elken cylindereinhoud en weer neerzetten bij 18°, waren de bezinkingscijfers na 2 dagen resp. 6, 7, 8 en 16 %.

Bij een andere met 10 % water verdunde karnemelk, die voor de eene helft niet, voor de andere helft gedurende 10 min. op 25° werd verwarmd, was de bezinking van het niet verwarmde gedeelte na 2 dagen staan bij 17 à 18° slechts 2 %, van het verwarmde deel echter 16 %.

Ook op eene andere veel snellere wijze kan men de toenemende bezinkingsneiging, door korte verwarming ontstaan, aantoonen, n.l. door centrifugeeren in buizen van bijv. 50 cc. in een snelloopende laboratorium-centrifuge met een diameter van  $\pm 28$  c.M., gemeten tusschen de lijnen, die 2 tegenover elkaar gelegen vloeistofkolommen bij horizontalen stand halveeren. Zoo gaven 50 cc. van de hiervoor genoemde, 5 min. op verschil-

lende temperaturen gehouden, karnemelk-porties A, B, C en D, na gedurende 5 min. op  $\pm 2700$  toeren per minuut gecentrifugeerd te zijn, bezinkingen der caseïne te zien van resp. 29 %, 30 %, 38 % en 55 %. Hier komt nog duidelijker uit dan vroeger, dat door eene verwarming gedurende 5 min. op 22° zoo goed als geen verandering in de caseïne optreedt, maar dat eene zoodanige verwarming op 26° en vooral op 30° de bezinkingsneiging der caseïnedeeftjes ongetwijfeld doet toenemen. (Ook om snel een voorloopigen indruk te krijgen van het verschillend water- of caseïnegehalte van een aantal karnemelken is deze centrifugeermethode zeer geschikt.)

Bij sterke verdunning van de karnemelk met serum moet eene eventueel door verwarming ingetreden wijziging in het S.G. der caseïnedeeftjes gemakkelijker aan het licht komen dan bij onverdunde. Om dit na te gaan werd eene hoeveelheid karnemelk gedurende 30 min. op 25° verwarmd, daarna afgekoeld op 17° en met viermaal het eigen volumen aan karnemelkfiltraat verdund. Dit mengsel werd vergeleken met niet verwarmde en op dezelfde wijze verdunde karnemelk. Terwijl de bezinking der caseïne in het eerste geval na 30 min. staan bij 17° reeds 19 % bedroeg, was dit bij de onverwarmde verdunde karnemelk slechts 3 %; na 1½ uur waren deze cijfers resp. 48 % en 19 %. Men verkrijgt door deze, door meerdere herhalingen bevestigde, uitkomst, sterk den indruk, dat het S.G. der caseïnedeeftjes (of aggregaten daarvan) door 30 min. verwarming op 25° reeds merkbaar wordt vergroot.

Men kan trouwens gemakkelijk waarnemen, dat bij de verwarming der karnemelk gedurende eenigen tijd op 25° of op 30° de structuur wordt veranderd. Laat men eenige druppels onverwarmde verse karnemelk, die pas dooreengemengd is, langs den wand van een reageerbuis loopen, dan zijn daar de caseïnevlokjes slechts ter nauwernood met het bloote oog waarneembaar, terwijl zij bij de verwarmde karnemelk gemakkelijk zijn te zien.

Merkwaardig is, dat de invloed van zulk eene verwarming op de bezinkingssnelheid en op de structuur der caseïne veel geringer wordt, wanneer de karnemelk eerst één of meer dagen bij kamertemperatuur is bewaard. Dit hangt waarschijnlijk samen met een andere eigenschap van verse karnemelk, namelijk het vlokvormend vermogen, dat van veel invloed is op het al of niet optreden van inwendige schifting onder bepaalde omstandigheden en waarop later zal worden teruggekomen.

Reeds door een korte verwarming op 25° of 30° blijkt dus de caseïne der karnemelk zoodanig van toestand te veranderen, dat de neiging tot schiften toeneemt. Het is nu de vraag of ook niet bij bewaren der karnemelk bij 20° of nog lager op den duur hetzelfde zal geschieden. Om dit te onderzoeken werd eene hoeveelheid verse karnemelk, waaraan 10 % water en, om veranderingen in den zuurheidsgraad uit te sluiten, 1 pro mille mosterdolie was toegevoegd, in 3 deelen verdeeld. Van het eerste deel werd direct de bezinkingssnelheid der caseïne bepaald bij 10°; het tweede gedeelte werd bij 10° gedurende 24 uur bewaard, het derde gedeelte evenlang bij 20°, daarna werd in deze 2 laatstgenoemde porties eveneens bij 10° de bezinking bepaald, zoowel zonder als na toevoeging van 4 maal de hoeveelheid karnemelkfiltraat. Het resultaat is in tabel IVa en IVb weergegeven.

TABEL IVa.

Bezinking bij 10°.	Versche karnemelk direct aangezet.	Karnemelk eerst 24 u. bij 10° bewaard.	Karnemelk eerst 24 u. bij 20° bewaard.
na 24 uur. . . . .	4 %	4 %	5 %
" 2 dagen . . . . .	8 %	8 %	10 %
" 3 " . . . . .	12 %	12 %	14 %
" 4 " . . . . .	16 %	17 %	20 %

TABEL IVb.

Bezinking bij 10°.	Karnemelk eerst 24 u. bij 10° bewaard, daarna 5 × verdund met filtraat.	Karnemelk eerst 24 u. bij 20° bewaard, daarna 5 × verdund met filtraat.
na ½ uur. . .	2½ %	14 %
" 1 " . . .	10 %	36 %

Inderdaad blijkt uit tabel IVa en nog duidelijker uit tabel IVb, dat het bewaren bij 20° gedurende 24 uur de neiging tot bezinking van de caseïne reeds doet toenemen. Uit de bijna geheel overeenstemmende cijfers van kolom 2 en 3 van tabel IVa volgt, dat het bewaren bij 10° der karnemelk gedurende 24 uur geen invloed op de bezinking uitoefent, althans wanneer de zuurheidsgraad constant wordt gehouden.

Ook de snelle methode om de bezinkingsneiging na te gaan gaf een duidelijk verschil bij de 24 uur bij 10° en de even lang bij 20° bewaarde karnemelk; de bij 5 min. centrifugeeren in buizen verkregen bezinking bedroeg namelijk resp. 52 % en 59 %.

Tenslotte zij nog meegedeeld, dat verdere proeven, wier uitvoerige vermelding te veel ruimte zou vereischen, hebben aangetoond, dat ook een korteren tijd bewaren bij 20°, bijv. gedurende 16 uur, de karnemelk ongunstig beïnvloedt, en dat dit ook het geval is, wanneer zij 24 uur bij 18° wordt bewaard. Al deze proeven werden uitgevoerd met door mosterdolie geconserveerde karnemelk, zoodat eene eenigszins belangrijke verhooging van den zuurheidsgraad was uitgesloten. De op drie manieren aangetoonde verhoogde bezinkingsneiging, als ook het na de verwarming grovere en wittere uiterlijk der caseïnedeeftjes, wijst er op, dat eene betrekkelijk geringe temperatuursverhooging der karnemelk eene met dehydratatie gepaard gaande samenvoeging der caseïnedeeftjes tot grootere complexen tengevolge heeft, welke noch door langdurige beweging der vloeistof, noch door langen tijd bewaren daarvan bij 0°, kan worden opgeheven, dus waarschijnlijk niet omkeerbaar verloopt.



In de tweede plaats moet worden nagegaan, welke de invloed is der toename van den zuurheidsgraad bij het bewaren van karnemelk bij verhoogde temperatuur.

Nu zou men allicht geneigd zijn, wanneer in een door staan bij vrij hooge temperatuur (bijv. 18 à 20° C.) sterk zuur geworden karnemelk belangrijke bezinking der caseïne optreedt, de doorzuring als althans één der oorzaken te beschouwen der schifting. Dat dit niet het geval is, kan uit de volgende proefnemingen blijken.

Normale fabriekskarnemelk, waaraan, ter bevordering der caseïne-bezinking 10 % extra-water was toegevoegd, werd in 2 helften verdeeld; bij de eene helft werd 1 pro mille mosterdolie gevoegd, om den zuurheidsgraad, die aanvankelijk 66 N/10 per 100 cc. bedroeg, constant te houden; bij de andere helft niets. Uit elk dezer 2 helften werden nu 3 wijde maatcylinders van 250 cc. gevuld, waarna deze cylinders 2 aan 2 resp. op 7 à 8°, 14 à 15° en 18° werden gebracht, bij welke temperaturen ze ter bezinking werden neergezet. Na telkens 24 uur werd de bezinking der caseïne gemeten en na 4 dagen ook de zuurheidsgraad bepaald. De bezinkingscijfers vindt men in tabel V; zij geven aan de hoogte der serumlaag, uitgedrukt in procenten van de totale vloeistofhoogte. Bij 7 à 8° zijn de bezinkingscijfers der karnemelk zonder mosterdolie met een eindzuurheidsgraad van 73 nage-noeg gelijk aan die der karnemelk met mosterdolie, met een constant gebleven zuurheidsgraad 66; bij 14 à 15°, waar de zuurheidsgraad na 4 dagen resp. 84 en 70 bedroeg, is de bezinking der zuurdere karnemelk duidelijk iets geringer dan bij de minder zuur geworden karnemelk. Bij 18°, waar het verschil in zuurheidsgraad natuurlijk veel sneller tot stand komt, is het verschil in bezinking nog veel aanzienlijker.

TABEL V.

Bezinking na	Bezinking bij 7° à 8°		Bezinking bij 14° à 15°		Bezinking bij 18°	
	zonder cons. mid.	met cons. mid.	zonder cons. mid.	met cons. mid.	zonder cons. mid.	met cons. mid.
1 dag . . . . .	spoor	spoor	1	1	2	4
2 dagen . . . . .	1½	1½	4	5	4½	9½
3 „ . . . . .	3½	3½	6½	8½	7½	14
4 „ . . . . .	4½	5	8	10½	10	16½
Eindzuurheidsgraad .	73 N/10	66 N/10	84 N/10	70 N/10	84 N/10	71 N/10

Een tweede proef met andere karnemelk, die precies als de vorige werd uitgevoerd, doch waarbij als hoogste temp. 20° werd genomen, gaf een analoog resultaat; alleen waren de verschillen iets kleiner. Zie tabel VI.

TABEL VI.

Bezinking na	Bezinking bij 7° à 9°		Bezinking bij 13.5°—14.5°		Bezinking bij 20°	
	zonder cons. mid.	met cons. mid.	zonder cons. mid.	met cons. mid.	zonder cons. mid.	met cons. mid.
1 dag . . . . .	spoor	1	1½	2	2	2½
2 dagen . . . . .	2½	2½	4	5	7	9
3 " . . . . .	3	3	6	7	11	14
4 " . . . . .	4	4	9	10	14½	19
Eindzuurheidsgraad .	75 N/10	71 N/10	81 N/10	71 N/10	83 N/10	72 N/10

Alvorens nu echter uit deze, nog meermalen bevestigde uitkomsten te concludeeren, dat bij temperaturen tusschen 15° en 20° een toename van den zuurheidsgraad der karnemelk met eene langzamere bezinking der caseïne gepaard gaat, moet eerst nog de mogelijkheid onder het oog worden gezien, of misschien ook de mosterdolie op zich zelf, afgezien van hare conserveerende eigenschappen, de bezinking der karnemelk beïnvloedt, bijv. door chemische inwerking.

Hiertegen pleiten echter de volgende waarnemingen:

1°. Wanneer de karnemelk door bewaren bij kamertemperatuur reeds een hooge zuurheidsgraad heeft verkregen gaat de bezinking zonder en met mosterdolie even snel.

2°. Volgens tabel V en VI is de invloed der mosterdolie bij  $\pm 8^\circ$  zelfs na 4 dagen zoo goed als nihil.

3°. Bij centrifugeeren der karnemelk in buizen in een snelloopende centrifuge maakt het geen verschil voor de mate der bezinking of er geruimen tijd van te voren al of niet mosterdolie was toegevoegd.

4°. Het snellere bezinken der caseïne bij staan der karnemelk bij kamertemperatuur is ook te constateeren bij toevoeging van andere stoffen, die de verdere doorzuring tegengaan, zooals sporen fluoornatrium of salicylzuur.

Al deze feiten wijzen er op, dat de mosterdolie, behalve eene conserveerende werking, geen bijzonderen invloed op de karnemelk uitoefent. Eene toename van den zuurheidsgraad der karnemelk gaat dus volgens tabel V en VI inderdaad *niet* gepaard met eene toename der bezinkingsneiging der caseïne. Of de in sommige gevallen geconstateerde geringere bezinking een gevolg is van de werking der melkzuurfermenten of van andere microorganismen, moet hierbij in het midden worden gelaten.

Een derde factor, welke, evenals een geringe eiwitconcentratie en eenigszins hogere temperaturen, bevorderlijk is gebleken voor het optreden van oppervlakteschifting, en als zoodanig ook reeds bij velen in de zuivelpraktijk bekend, is een te lage zuurheidsgraad van den te karnen room.

Uit een groot aantal in het laboratorium verrichte karnproeven met room van verschillend vetgehalte in kleine dubbele Holsteinsche karns bleek, dat wanneer de room slechts werd gezuurd totdat juist duidelijke schifting en een begin van dik worden optrad, de hieruit verkregen karnemelk steeds neiging vertoonde tot betrekkelijk snelle bezinking, terwijl dezelfde room, doch behoorlijk doorgezuurd en tegelijk met de andere portie op geheel dezelfde wijze gekarnd, steeds karnemelk leverde met een geringere bezinkingssnelheid der caseïne. Zeer snel blijkt die invloed van den zuurheidsgraad van den room op de bezinkingsneiging der caseïne, wanneer men de reeds eerder genoemde centrifugeeringsmethode in buizen op de karnemelk toepast. Na 5 min. centrifugeeren is er steeds een duidelijk verschil in bezinking te constateeren. Evenzoo is er een duidelijk verschil merkbaar in de snelheid, waarmede de caseïnevlokken zich afzetten in de 2 soorten 5 maal met hun filtraat verdunde karnemelk.

Maakt dit gedrag der na korte roomzuring verkregen karnemelk het reeds waarschijnlijk, dat de caseïne zich hier in een dichtere, minder gezwollen toestand bevindt, dit vermoeden wordt bevestigd door het feit, dat de inwendige weerstand in zulke karnemelk zonder uitzondering gebleken is geringer te zijn dan die in normale karnemelk van goed gezuurden room.

De verhouding der inwendige weerstanden werd bepaald volgens de methode der vallende kogeltjes, daar de bij viscositeitsmetingen meer gebruikelijke en handige viscosimeter van OSTWALD hier niet kon worden aangewend wegens de steeds in karnemelk bestaande neiging om zich in caseïnevlokken en serum te scheiden, wat ook verband houdt met het reeds vroeger vermelde vlokvormend vermogen der karnemelk, waarop later uitvoerig zal worden teruggekomen.

De metingen werden verricht met een glazen kogeltje van bijv. 122 mgr., waarvan de valtijd werd bepaald in een kolom karnemelk van  $\pm 90$  c.M. hoogte in een van onderen gesloten buis en met een diameter van 3 à 4 c.M. Hierbij werd, met behulp van een chronometer, het tijdstip bepaald, waarop het onmiddellijk boven de vloeistof losgelaten kogeltje in de karnemelk verdween en het oogenblik, waarop het bolletje den bodem bereikte. Dit laatste was, niettegenstaande de ondoorzichtigheid der vloeistof, goed waar te nemen in een op kleinen afstand van den bodem geplaatst spiegelkje. Deze metingen werden steeds direct na vulling van de buis verricht, daar ten gevolge van het vlokvormend vermogen der karnemelk de inwendige weerstand spoedig toeneemt. De hiermee gepaard gaande valtijdstoename in een bepaald tijdsverloop (welke later zal worden besproken), vindt men in tabel VIII aangegeven in kolom 15 en 16.

Worden deze metingen bij dezelfde temperatuur verricht met 2 verschillende karnemelken van nagenoeg hetzelfde S.G., dan is de verhouding der inwendige weerstanden bij benadering gelijk aan de verhouding der valtijden, wanneer althans, ook op deze niet meer in strikten zin homogeen te noemen vloeistof, de wet van STOKES nog bij benadering van toepassing is.

Als voorbeeld volgt hier in tabel VII nu het resultaat van de metingen der bezinkingssnelheden der caseïne en valtijden bij 2 karnemelken, waarvan de eene afkomstig was van tot begonnen schifting gezuurden room. Voor meerdere cijfers kan verwezen worden naar tabel VIII, kolom 13 en 14.

TABEL VII.

Karnemelk afkomstig:	Bezinking na 48 uur staan in cyl. bij 15°.	Bezinking bij centrif. bij 17°.	Bezinking na 5 × verd. na 1 uur bij 17°.	Valtijden bij 15°.
van kort gezuurden room . . . . .	8 %	29 %	22 %	4.0 sec.
van lang gezuurden room . . . . .	2 %	21 %	2 %	4.5 sec.

De veronderstelling, dat deze verschillen een gevolg zijn, althans in hoofdzaak, van den minder gezwollen toestand der caseïne na onvoldoende roomzuring, ligt voor de hand en wordt bevestigd door hetgeen onder het microscop, bij sterke vergrooting in het donkere veld, is waar te nemen, wanneer we het zuringsproces zich daarbij in een zeer dun laagje gepasteuriseerde ondermelk in een kwartskamertje van enkele  $\mu$ 's hoogte laten voltrekken.

We zien dan, dat de tegen den donkeren achtergrond, nauwelijks zichtbare, uit caseïne-calciumcomplexen bestaande talloze submicronen, welke in zeer levendige Brownsche moleculairbeweging verkeerden, langzamerhand overgaan in grootere wittere caseïnedeeftjes, die zich niet meer zoo snel bewegen en eindelijk, na voldoende in omvang te zijn toegenomen, zich dicht aaneen op den bodem van het kwartskamertje afzetten, doch steeds door nauwe kanaaltjes van elkaar gescheiden. Een tijdlang blijft boven deze stilliggende caseïne-micellen nog een eigenaardige trilbeweging en schittering zichtbaar van nog zeer kleine submicronen, maar eindelijk houdt bij verdere doorzuring, ook dit op en treedt verder weinig verandering meer in. Soms gelukt het de verschillende stadia der vorming van de caseïne-micellen gelijktijdig naast elkaar in een praeparaat waar te nemen, wat bewijst, dat de zuring ook nog in zulk een kleine ruimte plaatselijk met zeer ongelijke snelheid verloopt. Met behulp van een oculairmicrometer kon bij eene omstreeks 1200-voudige vergrooting de diameter der stilliggende „doorgezuurde” caseïne-micellen op  $\pm 0.5 \mu$  worden bepaald. De bewegelijke submicronen vóór de zuring zijn niet voor meting op deze wijze vatbaar, zij werden door WIEGNER <sup>7)</sup> geschat op 0.005—0.1  $\mu$ ; alleen de grootere daarvan zijn bij donkerveldbelichting zichtbaar.

Het karakteristieke der zuring in colloïd-chemischen zin is dus de vorming en de langzame samenballing van caseïne-submicronen, waarschijnlijk onder insluiting van serum, tot caseïne-micellen, die zich op hun beurt weer aaneensluiten tot grootere complexen, hetgeen blijkens het microscopische beeld weer onder opname van serum tusschen de micellen plaats heeft. Zoo wordt bij ongestoorde zuring ten slotte een zeer waterrijke maar toch samenhangende, gelatineuse wrongelmassa gevormd, des te steviger

7) Koll. Zeitschr. 8 (1911), S. 227.  
Ztschr. f. Nahr. u. Gen. m. 27 (1914), 425.

TABEL

Nummer van de proef-neming.	Vetgehalte room, melk of ondermelk.	Zuurheidsgraad van 100 ccte karnen room, melk of ondermelk: $R_o$ onvoldoende en $R_v$ voldoende gezuurd.		Bezinking der caseïne na 48 u. staan bij de temp. T in de karnemelken $K_o$ en $K_v$ afkomstig van $R_o$ en $R_v$ .			Bezinking en opstijging der caseïne na 48 u. staan bij 20° C. in de karnemelken $K_o$ en $K_v$ .	
Nº.	%.	$R_o$ cc's N/10	$R_v$ cc's N/10	T ° C.	$K_o$ %.	$K_v$ %.	$K_o$ %.	$K_v$ %.
1	2	omgerekend voor room met 20% vet.		5	6	7	8	9
I	19	59	83	14—15	6	spoor	5 bezink., 7 opstijg.	3 bezink.
II	13	58	82	16—17	19	3	2 bezink., 10 opstijg.	1½ bezink.
III	10.6	59	87	16—17	17	1	5 bezink., 12 opstijg.	4 bezink.
IV	8.9	61	86	15	10	2	3 bezink., 9 opstijg.	5 bezink.
V	5.6	62	84	16—17	14	2½	4½ bezink., 2 opstijg.	5 bezink.
VIa	20.2	59	74	16	16	2	20 opstijg.	3 bezink.
VIb	0.7	60	78	16	24 opstijg.	1½	tot. geschift	3 bezink.
VIIa	20.6	58	74	13—14	6	2	5 bezink.	2½ bezink.
VIIb	0.6	61	81	13—14	10	2	33 opstijg.	1 bezink.
VIIIa	21.7	59	70	14—15	17	4	11 bezink. (veel gas)	4 bezink.
VIIIb	0.6	60	70	14—15	19	2	20 opstijg.	10 opstijg.
IXa	20.9	59	73	14—15	20	2	2 bezink., 15 opstijg.	3 bezink.
IXb	0.6	59	72	14—15	14	2	sterke inw. schifting	3 bezink.
Xa	22.7	60	76	14—15	16	3	2 bezink., 6 opstijg.	4 bezink.
Xb	3.2	61	80	14—15	18	3	sterke inw. schifting	spoor
XIa	20.0	59	75	14—15	12	2	3 bezink., 7 opstijg.	2 bezink.
XIb	0.5	60	76	14—15	4 (inw. schift.)	3	2 bezink., (sterke inw. schifting)	3 bezink.
XIIa	19.8	58	74	14	10	1	2 bezink., 10 opstijg.	2 bezink.
XIIb	0.6	57	74	14	3 (inw. schift.)	3	45 opstijg.	4 bezink.

## VIII.

Bezinking der caseïne na gelijk- tijdig centri- fugeeren der karne- melken $K_o$ en $K_v$ gedurende 5 min.		Valtijden van een glaskogeltje van 122 mgr. in een kolom karnemelk van $\pm 90$ c.M. bij de temp. T.			Valtjdstoename na 30 min. staan der karnemelk in de buizen bij de temp. T van kolom 12.		Karn- tempe- raturen.	Vetgehalte der karnemelk.	
$K_o$ ‰.	$K_v$ ‰.	T °C.	$K_o$ Sec.	$K_v$ Sec.	$K_o$ Sec.	$K_v$ Sec.	°C.	$K_o$ ‰.	$K_v$ ‰.
10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
24	16	14—15	3.8	6.0	2.9	20.0	14	0.32	0.35
36	20	16—17	3.5	5.4	1.8	20.6	15½	0.59	0.48
37	20	16—17	3.0	4.8	0.8	10.4	15½	0.45	0.34
44	18	15	3.5	4.7	1.9	6.5	15½	0.43	0.36
45	25	15—16	3.2	4.9	1.2	6.6	16	0.45	0.34
47	31	15—16	3.6	4.2	5.8	7.0	15	0.88	0.42
57	51	15—16	2.9	4.0	0.6	2.6	15	—	—
24	20	13—14	3.2	4.2	1.9	19.8	15	0.53	0.45
54	29	13—14	3.3	4.5	1.5	19.9	15	—	—
48	24	14—15	3.4	3.6	1.9	4.4	15	0.69	0.60
59	43	14—15	3.0	3.7	1.1	2.9	15	—	—
38	31	14—15	3.1	3.7	1.9	6.9	15	0.57	0.48
63	43	14—15	2.8	3.6	0.8	3.4	15	—	—
34	28	14—15	3.2	3.5	2.8	3.0	15	0.85	0.56
60	33	14—15	2.8	3.6	0.9	2.4	15	0.29	0.23
38	28	14—15	3.0	3.4	1.8	4.4	15	0.75	0.44
57	39	14—15	3.0	3.4	0.8	3.5	15	—	—
36	22	14	3.4	3.5	3.1	3.7	15	0.83	0.50
64	29	14	3.0	3.4	0.8	2.9	15	—	—

van structuur naarmate de zuring vollediger verlopen is en dus de „zwelling” der caseïne-aggregaten (samentreding van submicronen en micellen onder seruminsluiting) verder is voortgeschreden.

Na afloop van het hierop volgende karnproces, waarbij de min of meer volledig „gezwollen” caseïne-massa in kleine, met bloot oog nog juist zichtbare caseïne-complexen wordt uiteengeslagen, is het nog zeer goed denkbaar, dat de structuur der resulterende karnemelk, voor zoover zij wordt bepaald door den bouw der bedoelde caseïne-complexen, afhankelijk zal zijn van de wijze, waarop de zuring vroeger heeft plaats gehad.

Een sterke bezinkingsneiging, zooals bij karnemelk van onvoldoend gezuurden room werd geconstateerd, en ook een geringe inwendige weerstand kunnen dus zeer goed een gevolg zijn van een onvolledig zwellingsproces der caseïne-micellen tengevolge van een nog onvoldoende zuurvorming. Zij zullen vermoedelijk minder gehydrateerd zijn dan na volledige zuring.

In verband hiermede doet zich nu de vraag voor of het door karnen ontijdig onderbroken zwellingsproces der caseïne niet in de karnemelk kan worden voortgezet en of dientengevolge, wanneer de zuurheidsgraad verhoogd is, de karnemelk niet weer meer normale eigenschappen kan verkrijgen, wat betreft bezinking en inwendige weerstand.

Het onderzoek heeft geleerd, dat dit niet of althans in slechts zeer beperkte mate, het geval is. In genoemd opzicht abnormale karnemelk blijft abnormaal, ook wanneer de zuurheidsgraad is verhoogd tot het bedrag, dat voor de gelijktijdig op normale wijze verkregen karnemelk was gevonden. Belet men dadelijk na het karnen, door toevoeging van mosterdolie, de doorzuring, dan is bezinking nog iets sterker; bij de na korte roomzuring verkregen karnemelk, bedoeld in tabel VII, is dan de bezinking na 48 uur bij 15° niet 8 %, doch 11 %, ten bewijze dat er toch wel *iets* verandert aan de caseïne bij doorzuren en wel op zoodanige wijze, dat daardoor de bezinkingsneiging afneemt. Dit is misschien te verklaren door aan te nemen, dat toch ook in de caseïnevlokken der karnemelk nog eenige „zwelling” met toenemende zuurheidsgraad plaats heeft en dat deze zwelling uitblijft als de doorzuring wordt belet, waardoor de bezinkingsneiging der caseïne grooter is dan na doorzuring. Ook het vroeger bij normale karnemelk geconstateerde feit der iets mindere bezinkingsneiging bij doorzuring, vergeleken met die van normale karnemelk met constant gehouden zuurheidsgraad, is waarschijnlijk aan de zelfde oorzaak toe te schrijven. Zoo werd voor de normale karnemelk van tabel VII voor de bezinking na 2 dagen met mosterdolie 3 % gevonden in plaats van 2 % zonder m.o.; na 3 dagen was dit verschil nog iets grooter. Van een weder normaal worden bij doorzuring der karnemelk, welke van onvoldoend gezuurden room afkomstig is, is echter geen sprake, zooals uit de vele in tabel VIII medegedeelde gevallen blijkt, waar al de cijfers voor de bezinking betrekking hebben op niet geconserveerde, dus doorzurende karnemelk. Evenmin kan de grootere bezinking der karnemelk van kort gezuurden room toegeschreven worden aan de belangrijke doorzuring dier karnemelk, zooals sommigen aannemen, want beletten der doorzuring door conserveermiddelen of lage temperatuur neemt deze eigenschap niet weg, zooals we hiervóór hebben aangetoond.

Onderwerpt men echter een nauwelijks geschiften room in plaats van aan een kamproces aan korten tijd doorroeren, dan blijven er nog voldoende groote caseïnecomplexen in ongeschonden toestand over om hierin het „zwellingsproces” nog met succes te laten plaats hebben, wanneer men den room verder laat doorzuren tot de normale zuurheidsgraad is bereikt. Althans, wanneer men den room daarna pas gaat karnen, dan verkrijgt men een karnemelk, die zich, wat de bezinkingsneiging der caseïne betreft, zoo niet geheel, toch zoo goed als op dezelfde wijze gedraagt als normale karnemelk. Toch is het tijdelijk onderbreken van het „zwellingsproces” door roeren niet geheel zonder schade geweest voor de later, na doorzuren en karnen, in de karnemelk aanwezige caseïnevlokken; want als regel werd de bezinkingsneiging, ook na centrifugeeren, toch iets grooter en vooral ook de inwendige weerstand iets kleiner gevonden dan bij de gelijktijdig op normale wijze verkregen karnemelk.

Het onvoldoende zuren zoowel als het doorroeren van den room in zoo-genaamde „roomrijpers” met bewegelijke koellichamen (vooral bij beginnende schifting) is in elk geval af te raden, waar het er om gaat het optreden van oppervlakteschifting zooveel mogelijk tegen te gaan.

Als toelichting bij tabel VIII diene nog het volgende:

Bij de proefnemingen I t/m V werd uitgegaan van weidemelk, bij de overigen van stalmelk. De zoo noodig met ondermelk verdunde centrifuge-room, de melk of de minstens op 0.5 % vet gebrachte ondermelk (bij lager vetgehalte trad bij karnen sterk schuimen op) werd door langzame verhitting tot 85° gepasteuriseerd, gekoeld en gezuurd met 6 à 7 % zuursel. In den zomer werd wat dieper gekoeld en bij oplopende temperatuur gezuurd; in den winter werd minder diep gekoeld en bij dalende temperatuur gezuurd. Meestal had de zuring tusschen 10° en 14° plaats. De zuring van den 2½ L. room (of melk)  $R_0$  werd onderbroken, wanneer beginnende schifting en dik worden der vloeistof (vooral onderin) was te constateeren. Wanneer dit het geval was, was de zuurheidsgraad, berekend voor room met 20 % vet, meestal gelegen tusschen 58 en 61 N/10 per 100 cc.; bij filtreeren door een vouwfilter (in de ijskast) kon dan een helder filtraat worden verkregen met een zuurheidsgraad van meestal 46 à 49 en een PH van 4.85 à 4.8. Voor den voldoende doorgezuurden room was de zuurheidsgraad van het filtraat 58 à 62, de PH 4.65 à 4.55.

Bij de proeven I t/m VI werd  $R_0$  na ingetreden schifting direct gekarnd, bij de overige proeven eerst in ijs gezet en den volgenden dag gekarnd.  $R_v$  bleef bij de eerste vijf proeven een halve dag en een nacht langer doorzuren dan  $R_0$ , vandaar de wat abnormaal hooge zuurheidsgraad. Bij de proeven VI t/m XII is dit voorkomen door plaatsing in ijs gedurende één nacht na het bereiken van den gewenschten zuurheidsgraad. Door deze verschillende zuring van  $R_v$  is tevens uitgemaakt, dat een abnormaal hooge zuurheidsgraad van den room geen aanleiding behoeft te geven tot een schiftende karnemelk, zooals wel eens wordt beweerd, ook niet wanneer het vetgehalte van den room zeer laag is.

Bij alle karnsels werd, kort voor het afkarnen, zooveel water toegevoegd, dat er 15 % in den room aanwezig was. Er werd dan een karnemelk met een normale vetvrije drocgrest verkregen, n.m. 7.3 à 7.6 %.



Uit kolom 6 en 7 van tabel VIII blijkt het groote verschil in bezinking der caseïne van de, van  $R_o$  en  $R_v$  afkomstige karnemelken,  $K_o$  en  $K_v$ ; een zeer laag vetgehalte van het te karnen product schijnt meestal de schifting van  $K_o$  nog te bevorderen, zooals uit de gelijktijdig met room en met ondermelk uitgevoerde proeven blijkt (gemerkt met a en b).

Bij VIb, XIb en XIIb is zelfs inwendige schifting ingetreden bij matige temperatuur, hetgeen bij 20° regel is (zie kolom 8) en waarover later meer.

Ook bij de bezinking bij centrifugeeren (kolom 10 en 11) is de bezinking bij  $K_o$  grooter dan bij  $K_v$ ; een laag vetgehalte van het karnsel schijnt ook hier de bezinking te bevorderen, want de cijfers zijn voor gekarnde ondermelk hooger dan de overeenkomstige cijfers voor roomkarnemelk. In kolom 13 en 14 zien we, dat de met den inwendigen weerstand evenredige valtijden steeds voor  $K_o$  het kleinst zijn. Over de belangrijke verschillen in valtijdstoename (kolom 15 en 16) zal later bij de inwendige schifting worden gesproken.

Tenslotte blijkt uit de cijfers van kolom 18 en 19, dat het vetgehalte der karnemelk  $K_o$  op één uitzondering na steeds hooger is dan dat van  $K_v$ . De langdurige koeling van den room in ijs bij de proeven VII t/m XII doet dit verschil niet verdwijnen.

Hiermee zijn wel de meeste oorzaken nagegaan, die voor de oppervlakte-schifting der karnemelk in aanmerking komen. Alleen dient nog vermeld te worden, dat zij zich ook in belangrijke mate kan voordoen, wanneer er reeds van te voren eene verandering in de structuur der caseïne is ingetreden tengevolge van eene vroeger plaatsgegrepen sterke inwendige schifting, welke door latere menging der karnemelk oogenschijnlijk was opgeheven. Hierop zal later worden teruggekomen.

### III. *Het verschijnsel der „spontane vlokvorming” in karnemelk.*

We zouden dus nu kunnen overgaan tot de bespreking van den tweeden vorm van karnemelkschifting, welke in de inleiding als „inwendige schifting” is aangeduid.

Alvorens hiertoe over te gaan dient eerst besproken te worden een met die inwendige schifting nauw samenhangend eigenaardig verschijnsel, dat in elke verse karnemelk optreedt en dan ook aan velen bekend zal zijn, maar waarop, voor zoover ik weet, nooit bijzondere aandacht is gevestigd. Bedoeld wordt het verschijnsel, dat we misschien het best „spontane vlokvorming” kunnen noemen. Wanneer we een hoeveelheid normale verse karnemelk uit een glas langzaam in een ander overgieten en weer terug en dit een paar maal herhalen, dan maakt deze karnemelk een zeer gelijkmatigen, homogenen indruk. De daarin afzonderlijk voorkomende caseïne-aggregaten, fragmenten van de vroeger bij het zuren gevormde gezwollen en bij het karnen stukgeslagen wrongel, zijn slechts bij nauwkeurige beschouwing met bloot oog te onderscheiden; het best gaat dit nog, wanneer we eenige druppels op een donkere glasplaat uitgieten of langs den wand van een reageerbuis laten lopen, die we tegen een donkeren achtergrond bekijken.

Laten we dezelfde karnemelk echter bij 15 à 20° eenigen tijd, bijv. 2 uur of langer rustig staan, dan zien we, als we de karnemelk daarna voorzichtig overgieten, dat de consistentie en de structuur er van sterk zijn veranderd; de vloeistof maakt een veel minder bewegelijken en minder homogenen indruk. Ook de caseïne-aggregaten zijn veel grooter geworden en de samenhang daarvan is zoo sterk, dat bij voorzichtig uitgieten van een paar druppels op een donkere glasplaat de vlokvorming duidelijk is waar te nemen, zooals uit Fig. I, 1 en 2, blijkt.

Blijft de karnemelk in een flesch of glas vele uren bij 18° à 20° staan, dan kan de vlokvorming zoo sterk optreden, dat bij overgieten de karnemelk zelfs een brokkeligen en eenigszins „geschiften” indruk maakt (in den zin van sterk zuur geworden melk of van verhitte karnemelk). Toch is dit verschijnsel niet als eene echte schifting op te vatten, want na eenige malen overgieten herkrijgt deze karnemelk geheel haar gelijkmatig voorkomen (zie Fig. I rechts), ook bijv. de bezinking bij centrifugeeren is gelijk gebleven; de vlokvorming blijkt slechts eene omkeerbare structuurverandering in de karnemelk te hebben veroorzaakt. Wel kan het verschijnsel, zooals we zullen zien, onder invloed van bepaalde omstandigheden, aanleiding geven tot het ontstaan van werkelijke inwendige schifting.

Met kleine hoeveelheden karnemelk kunnen we de toename der vlokvorming met den tijd eenigszins quantitatief nagaan, door de beschouwing van een druppel op een donkere glasplaat op de volgende wijze. Een vijftal kolfjes van 50 cc., gemerkt 1 t/m 5, worden gevuld met versche en pas gemengde karnemelk van bijv. 17° à 18° en bij die temperatuur neergezet. Na 1 uur mengt men karnemelk N°. 2 door herhaald overgieten goed dooreen en laat deze verder weer rustig staan, een uur later doet men hetzelfde met N°. 3 en telkens een uur later ook met N°. 4 en N°. 5. Direct na menging van den inhoud van N°. 5, giet men hieruit een groote druppel op de zwarte plaat en direct daarna ook uit de andere 4 kolfjes. Men kan dan het resultaat nagaan van de vlokvorming in de karnemelk na resp. 4, 3, 2, 1 en 0 uur staan na menging, door vergelijking van de structuur der caseïne in de verschillende druppels, welke des te grover is naarmate de tijd van rustig staan der karnemelk grooter was. Practisch bleek het zóó mogelijk een soort puntenschaal aan te nemen, die de intensiteit der vlokvorming aangeeft, b.v. :

- 1) nauwelijks zichtbare vlokvorming;
- 2) op het eerste gezicht waarneembare (fijne);
- 3) matig grove;
- 4) grove, en
- 5) zeer grove vlokvorming met serumafscheiding.

Men kan met behulp hiervan gemakkelijk vaststellen, dat bijv. tusschen 10° en 20° de vlokvorming des te sneller en krachtiger optreedt, naarmate de temperatuur hooger is (zie Fig. I); bij 10° en lager gaat de vlokvorming al zeer langzaam en bij 0° is zij zoo goed als niet meer waar te nemen, ook niet na dagen staan der karnemelk. Na menging van „gevlokte” karnemelk, waarbij deze weer „ontvlokt” wordt en een normaal aanzien krijgt, kan het verschijnsel opnieuw optreden; dit kan vele malen herhaald worden.

Toch bleek het vlokvormend vermogen geen blijvende eigenschap te zijn en bij het ouder worden der karnemelk langzamerhand te verzwakken en wel bij bewaren bij hogere temperatuur sneller dan bij lagere. Zoo is het vlok-vormend vermogen der karnemelk na 24 uur staan bij 18° reeds veel minder krachtig en na 4 à 5 dagen bewaren geheel verdwenen. Zulke karnemelk krijgt bij lage temperatuur het vlokvormend vermogen niet weer terug; zelfs 10 dagen bewaren bij 0° had hierop geen invloed. Wordt verse karnemelk daarentegen 5 dagen bij omstreeks 0° bewaard, en dan weer op 18° gebracht, dan blijkt er nog een krachtige vlokvorming plaats te hebben. De toename van den zuurheidsgraad bij bewaren der karnemelk bij 18° speelt bij het verloren gaan van het vlokvormend vermogen geen rol van beteekenis, want bij vergelijkende proeven met door mosterdolie geconserveerde karnemelk nam ook hier het vlokvormend vermogen regelmatig af met den tijd; hoogstens ging de afname bij constanten lagere zuurheidsgraad iets langzamer. Dat de temperatuur op het verzwakken van de vlokvorming veel invloed heeft, bleek ook toen verse karnemelk gedurende 30 minuten op 30° werd verwarmd en direct daarna weer op 18° werd afgekoeld. Het vlokvormend vermogen is dan sterk verzwakt; ook na vele uren staan bij 18° treedt dan zoo goed als geen vlokvorming meer op; reeds eene verwarming van de karnemelk gedurende 5 min. op 25° had een merkbaar schadelijken invloed. Constant houden van den zuurheidsgraad verandert hieraan niets.

Zooals gezegd, schijnt een krachtige vlokvorming gepaard te gaan met eene sterke afname van de bewegelijkheid; de inwendige weerstand neemt blijkbaar sterk toe en waarschijnlijk bij hogere temperatuur (tusschen 10° en 20° C.) sneller dan bij lagere. Om vroeger vermelde redenen zijn ook deze inwendige weerstandsveranderingen in karnemelk onderzocht met de besproken methode der vallende kogeltjes.

Zoo werd als gemiddelde van eenige bepalingen van den valtijd van een glaskogeltje van 122 mgr. in verse goed dooreengemengde karnemelk, onmiddellijk na het inbrengen daarvan in de valbuis, bij 12° gevonden 3.6 sec. en in een andere buis, in een ander vertrek opgesteld, met de op 20° gebrachte karnemelk 3.4 sec. Nadat de karnemelk gedurende 2 uur resp. bij 12° en bij 20° in de buizen had gestaan, bleek de valtijd bij 12° tot 6.1 sec. en bij 20° tot 12.6 sec. te zijn toegenomen; eene toename van resp. 2.5 en 9.2 sec. Bij herhaling van deze metingen, (na dooreenmenging der karnemelk, opnieuw vullen der buizen en weer 2 uur laten staan) later op den dag, toen de karnemelk in het geheel 6 uur bij resp. 12° en 20° was bewaard geweest; was de valtijd na 2 uur staan bij 12° nu 5.3 sec. en bij 20° 7.5 sec.; de valtijdstoename bij 2 uur staan was dus nu nog maar resp. 1.7 en 4.1 sec.

De volgende proef geeft een indruk van het verband, dat er bestaat tusschen valtijdstoename in de karnemelk na telkens denzelfden tijd rustig staan en de mate van vlokvorming in dien zelfden tijd, wanneer we deze veranderingen op verschillende dagen, na het karnen verlopen, nagaan en in cijfers uitdrukken.

Eenige liters verse karnemelk, waarin om bederf tegen te gaan een spoor NaF was gedaan (1 cc. 4 % NaF per L.), werden op 17° à 18° gebracht

en 5 dagen bij die temperatuur bewaard. Uit dezen voorraad werd elken dag een buis voor de valproeven gevuld en steeds bij 17 à 18° de valtijd bepaald van een kogeltje van 122 mgr., zoowel direct na mengen (valtijd steeds 3.1") als ook na 17 uur rustig staan in de buis. Het verschil der valtijden geeft dan de valtijdstoename. Ook werd dan bepaald, door voorzichtig uitgieten van een druppel op een donkere glasplaat, de mate van vlokvorming, telkens na 17 uur staan der karnemelk in een kolfje bij dezelfde temperatuur, uitgedrukt in de cijfers van bovengenoemde „schaal van vlokvorming". Ziehier het resultaat (tabel IX.)

TABEL IX.

Ouderdom der karnemelk (uren verlopen na 't karnen. . . . .	26	51	75	99	123
Valtijdstoename bij telkens 17 uur staan der karnemelk (in sec.) . . . . .	5.5	1.8	1.3	1.0	0.7
Vlokvorming na telkens 17 uur staan (in schaaldeelen) . . . . .	3	2	< 1	< 1	< 1

Evenzeer als de valtijdstoename, dus ook de vermeerdering van den inwendigen weerstand, bij het ouder worden der karnemelk, langzamerhand van minder beteekenis wordt, neemt ook de vlokvorming af in intensiteit. Bij herhaling van dergelijke metingen met andere karnemelk werden gelijksoortige resultaten verkregen, hoewel er vrij groote verschillen konden worden geconstateerd bij verschillende karnemelken wat betreft de oorspronkelijke intensiteit der vlokvorming en weerstandsvermeerdering. Hierbij bleek o.a., dat reeds enkele procenten inspoelwater meer of minder, de weerstandsvermeerdering der karnemelk in bepaalden tijd sterk beïnvloedden; de vlokvorming wordt door watertoevoeging sterk verzwakt. Dat de weerstandsvermeerdering geheel op rekening komt van veranderingen in de vaste bestanddeelen der karnemelk, bleek uit het feit, dat in karnemelk-filtraat geen spoor van eene neiging tot vergrooing van den inwendigen weerstand was te ontdekken. Dat verder de geconstateerde valtijdsverlengingen niet geheel of gedeeltelijk kunnen veroorzaakt worden door eene (bij lang staan der karnemelk in de hooge buis) toenemende concentratie van de caseïne in de onderste lagen, kon worden aangetoond door op verschillende diepte, na 5 uur en na 18 uur staan der karnemelk, monsters te nemen en deze op totaal eiwitgehalte te onderzoeken. Bij een versche karnemelk werd na 5 uur gevonden: bovenin 2.96 %, middenin 2.95 % en onderin 2.94 %; bij eene andere karnemelk, na 18 u. staan, waren deze cijfers 2.84 %, 2.86 % en 2.86 %. Er is dus geen sprake van eene belangrijke opeenhooping der caseïne onder invloed der zwaartekracht.

De nauwe samenhang tusschen vlokvormend vermogen en het toenemen van den inwendigen weerstand bleek verder nog uit de volgende waarnemingen.

1°. Evenals het vlokvormend vermogen, blijkt ook de eigenschap van den toenemenden weerstand lang onveranderd te blijven bestaan, wanneer de karnemelk bij zeer lage temperatuur wordt bewaard en dan bij kamer-

temperatuur wordt onderzocht. Inwendige weerstandsverandering van beteekenis heeft bij 0° C. niet plaats, evenmin als er bij die temperatuur vlok-vorming optreedt.

2°. Evenmin als de vlokvorming, wordt de inwendige weerstand beïnvloed door het al of niet toenemen van den zuurheidsgraad; bij toevoeging van mosterdolie bijv. treedt geen wijziging van beteekenis op.

3°. Verwarming op 25° gedurende 10 min. of langer benadeelt zoowel de vlokvorming als ook de valtijdstoename in belangrijke mate.

4°. Toevoeging van een kleine hoeveelheid natronloog, zoodat bijv. de zuurheidsgraad met 10 eenheden wordt verlaagd, schaadt zoowel vlok-vorming als valtijdstoename.

5°. Karnemelk, afkomstig van onvoldoend gezuurden room, heeft zoowel een zwakkere vlokvorming alsook eene doorgaans veel kleinere valtijds-toename dan karnemelk van goed doorgezuurden room (zie tabel VIII, kolom 15 en 16).

Hierdoor wordt het wel zeer aannemelijk, dat het verschijnsel der inwendige weerstandstoename een gevolg is van het ontstaan van vlokken in de karnemelk. Qualitatief kan die weerstandstoename nog aldus op zeer sprekende wijze worden aangetoond. Men brengt 200 cc. versche normale karnemelk in eenmaal op een groot vouwfilter, laat de filtratie doorgaan tot ongeveer 90 à 100 cc. filtraat is doorgelopen en brengt dan het residu eerst door afgieten uit den trechter en dan door afschrappen van het op een glas-plaat uitgespreide filter, zoo volledig mogelijk in een mortier, waarin men eerst het dikste gedeelte brengt en dit geleidelijk met het dünnere deel tot eene gelijkmatige dunne brij aanwrijft. Een gedeelte hiervan giet men in een reageerbuis van 1.5 à 2 c.M. diameter en plaatst deze in water van 18° à 20°. Na eenige uren staan is door de vlokvorming de massa zoo visceus geworden, dat men zonder iets te verliezen de reageerbuis kan omkeeren. Na doorroeren met een glasstaafje wordt de consistentie weer zoodanig, dat men de massa met een dunne straal kan uitgieten.

Voor al in dezen vorm doet de spontane vlokvorming sterk denken aan een verschijnsel, dat eenige jaren geleden door SCHALEK en SZEGVARY <sup>8)</sup> ontdekt is bij 6 à 10 procentige ijzeroxydsolen, waaraan eenig NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> of alcohol was toegevoegd. Zulk een aanvankelijk dun vloeibaar sol stolt na eenigen tijd tot een niet elastisch gel zonder zichtbare uitvlokking; tusschen bepaalde grenzen gaat dit sneller bij hoogere dan bij lagere temperatuur. Schudt men een buis met dit gel een oogenblik krachtig door, dan gaat het plotseling over in een dun vloeibaar sol, geheel gelijkend op dat, waarvan werd uitgegaan. Ook wordt het bij staan, bij dezelfde temperatuur als vroeger, in denzelfden tijd weer vast. Dit kan een onbepaald aantal malen worden herhaald.

Ook bij zink- en aluminiumhydroxydsolen zijn zulke verschijnselen waargenomen. Later hebben anderen, als ZOCHER en ALBU <sup>9)</sup> en FREUNDLICH en

<sup>8)</sup> Koll. Zeitschr. **32** (1923), S. 318 en **33** (1923), S. 326.

Zie ook: FREUNDLICH und RAWITZER. Koll. Chem. Beihefte **25** (1927), S. 231.

<sup>9)</sup> Über Sol-Gel-Systeme mit anisotropen Teilchen. Koll. Zeitschr. **46** (1928), S. 278.

ABRAMSON <sup>10)</sup> ook bij organische solen het verschijnsel, dat zij „thixotropie” noemden, weergevonden. Laatstgenoemde onderzoekers bereidden bij 45° eene 4 % gelatineoplossing, koelden deze snel tot kamertemperatuur af en vulden hiermee eenige reageerbuisen. Na 2 min. was de inhoud vast geworden, doch kon door schudden toen nog weer vloeibaar gemaakt worden, waarna in 5 minuten opnieuw stolling intrad. Geheel vergelijkbaar met de thixotropie van het ijzeroxydsol is dit verschijnsel echter niet, want daar werd de stolling door hogere temperaturen bevorderd, terwijl de gelatine daarentegen sneller vast wordt bij lagere temperatuur.

Juist de eigenaardige stolling-bevorderende invloed der hogere temperatuur is karakteristiek voor het bij het ijzeroxydsol optredende verschijnsel en wordt ook aangetroffen bij de vlokvorming in karnemelk, die dus in zekeren zin ook als een thixotropisch verschijnsel kan worden opgevat. Echter blijft een belangrijk punt van onderscheid, dat we in het laatste geval niet met een eenvoudig sol te doen hebben, maar met een mengsel, waarin de caseïne in uitgevlochten toestand voorkomt.

Ook het bij gewone temperatuur geleidelijk in sterkte achteruitgaan en tenslotte verdwijnen van het vlokvormend vermogen der karnemelk is een punt van verschil.

Wat er bij dergelijke thixotropische verschijnselen eigenlijk plaats grijpt is nog niet geheel opgehelderd; wel is het waarschijnlijk, dat bij het vast worden van het ijzeroxydsol een zich in nauwen samenhang vereenigen van ultramicronen tot secundair-deeltjes, zooals bij de gewone uitvloeking van een sol geschiedt, *niet* plaats heeft, hetgeen door SCHALEK en SZEGVARY ultramicroscopisch kon worden geconstateerd. Toch schijnt er eenige groepeerings der deeltjes tot losse verbanden in te treden, althans een soort vlokvorming was bemerkbaar bij het vast worden van het ijzeroxydsol, waarbij ook de Brownsche beweging der ultramicronen langzamerhand ophield.

Na het voorgaande is er dus wel iets voor te zeggen om de thixotropie van het ijzeroxydsol als eene omkeerbare ultramicroscopische vlokvorming te beschouwen en het in verse karnemelk waargenomen verschijnsel als eene dergelijke, maar dan macroscopische, vlokvorming en met een minder intensief en meer onbestendig karakter. Hiermee is niet in strijd de waarneming, dat in de in capillaire buisjes onder het microscoop beschouwde karnemelk geen frappante veranderingen waren te constateeren in de groepeerings der dicht opeenliggende primair aanwezige caseïnevlokjes, welke uit een groot aantal halfdoorzichtige zeer kleine caseïne-micellen bleken te zijn opgebouwd. Blijkbaar berusten de bij de vlokvorming optredende, met bloot oog zichtbare, veranderingen op eene rangschikking der vlokjes tot caseïne-complexen van zulke betrekkelijk groote afmetingen, dat dit niet onder het microscoop, waar ook alleen zeer dunne lagen kunnen worden onderzocht, is te constateeren. Wat het langzamerhand verdwijnen van het vlokvormend vermogen der karnemelk bij gewone, en het snel verloren gaan daarvan bij hogere temperatuur betreft, dit zal in verband met de daarbij, vooral bij hogere temperatuur, optredende grootere bezinkingsneiging der caseïne, waarschijnlijk wel op eene beginnende dehydratatie berusten.

10) Über die Thixotropie von Gelatinelösungen Z. f. Physik. Ch. 131 (1928), S. 278.

Overigens kan ook het steeds voortschrijdende proces van de eiwitafbraak hierbij een rol spelen.

In welk opzicht is nu deze spontane vlokvorming met haar thixotropisch karakter van belang voor de eventueele schifting van karnemelk? Om nog even terug te komen op de oppervlakteschifting, dus de versnelde bezinking der caseïne, de invloed hierop is niet gemakkelijk na te gaan. Wel kan bijv. de karnemelk, die onder constant houden van den zuurgraad door lang bewaren bij 18° het vlokvormend vermogen heeft verloren, vergeleken worden met dezelfde, doch in ijs bewaarde karnemelk, die daardoor het vlokvormend vermogen behield, en dan blijkt wel, dat laatstgenoemde bij dezelfde temperatuur iets langzamer bezinking vertoont, maar daarom is het nog lang niet zeker, dat dit aan het behoud van het vlokvormend vermogen is toe te schrijven. Verschillende factoren zijn bij zulk een proef in het spel. De kans, dat bij lang bewaren der karnemelk bij 18° tot het vlokvormend vermogen is verdwenen, ook reeds eenige dehydratatie der caseïne is ingetreden, is volgens het voorgaande lang niet gering.

We kunnen slechts zeggen, dat de vlokvorming in twee tegengestelde richtingen kan werken op de bezinking: remmend door de verhooging van den inwendigen weerstand en bevorderend, doordat de vlokvorming opgevat kan worden als eene beginnende omkeerbare scheiding der karnemelk in serum en in caseïnerijkere gedeelten, waardoor eene schifting als het ware wordt ingeleid. Hiermee in verband staat waarschijnlijk ook het vroeger vermelde verschijnsel, dat een korte verwarming op 30° van verse karnemelk de bezinkingsneiging en de structuur der caseïne sterk beïnvloedt, terwijl dezelfde verwarming veel minder effect heeft, wanneer eerst het vlokvormend vermogen der karnemelk door bewaren bij kamertemperatuur gedurende 2 dagen sterk is verzwakt. Dat er bij de vlokvorming werkelijk iets als eene inleiding van schifting plaats grijpt, kan gemakkelijk worden aangetoond door toepassing van de methode der snelle bezinking door centrifugeeren der karnemelk in buizen. Wanneer we tegelijk centrifugeeren verse karnemelk, die reeds 15 of 30 min. vóór het centrifugeeren rustig in de buis heeft gestaan en waarin dus reeds vlokvorming is opgetreden, en daarnaast dezelfde karnemelk, die na goede menging onmiddellijk vóór het centrifugeeren in een buis werd gedaan, dan blijkt na 5 min. centrifugeeren bij  $\pm 2700$  toeren per min., dat de caseïne in de eerste buis (met vlokvorming) aanmerkelijk meer is bezonken dan in de tweede, waar van vlokvorming van eenige beteekenis nog geen sprake kan zijn. Daar hier bij de zeer groote optredende centrifugaalkracht de invloed van den verhoogden inwendigen weerstand door vlokvorming wel van geen beteekenis zal zijn en ook van dehydratatie geen sprake kan zijn, geeft het resultaat op vergrootte schaal den invloed weer, die het optreden van vlokvorming alleen door haar vermogen om de scheiding der karnemelk in caseïne en serum in te leiden, kan hebben op de bezinking.

Bij de langzame bezinking laat echter ook de inwendige weerstandsvermeerdering, vooral bij iets hogere temperatuur, zijn invloed gelden in tegengestelden zin; de besproken gevolgen der vlokvorming zullen elkaar dus geheel of gedeeltelijk opheffen.

Belangrijker is de rol, die de vlokvorming speelt bij het optreden van inwendige schifting, zooals uit het volgende zal blijken.

#### .IV *Inwendige schifting.*

Men heeft in de praktijk reeds dikwijls gemerkt, dat onder omstandigheden, waarbij een sterk schuimen der karnemelk wordt waargenomen, hetgeen in het eene jaargetijde sterker schijnt op te treden dan in het andere, maar ook door mechanische oorzaken kan worden bevorderd, deze later neiging vertoont om te gaan schiften. Ook werd dit gebrek in Amerika geconstateerd bij het bereiden van „handelskarnemelk” uit gezuurde ondermelk, wanneer bij de zuring gasvormende microörganismen een rol hadden gespeeld.

Eenige hierover in de boterfabriek der Proefzuivelboerderij en in het laboratorium ingestelde proeven gaven resultaten, die met bovengenoemde waarnemingen in overeenstemming waren.

1°. Met de in genoemde fabriek aanwezige tuimelkarns wordt eene aanvankelijk vrij sterk schuimende karnemelk verkregen. Wordt direct na het afkarnen een flesch of cylinderglas uit de karnkraan gevuld, dan trad binnen 24 uur staan bij 15° of 20° vrij sterke inwendige schifting op, doch niet in de na een uur of langer uit de karnemelkbak geschepte en van schuim bevrijde karnemelk (zie Fig. II en III).

Nog veel sterker was de inwendige schifting bij een in het laboratorium gekarnde gezuurde ondermelk met 0.5 % vet, die na verwijdering van veel schuim, direct in een cylinder werd gebracht en reeds na een half uur staan bij 15° totaal was geschift (zie Fig. IV).

2°. Bij het leiden van verse karnemelk door een roompomp, zoodanig, dat er lucht mee werd gepompt, en veel schuim ontstond, trad ook in twee met die karnemelk gevulde flesschen sterke schifting in; echter niet of zeer weinig in twee flesschen, welke met niet gepompte karnemelk werden gevuld (zie Fig. V).

3°. Eenige, in samenwerking met de bacteriologische afdeling van het proefstation uitgevoerde, vergelijkende karnproeven,<sup>11)</sup> waarbij eenerzijds room, gezuurd met een cultuur van melkzuurfermenten en aromabacteriën, anderzijds room, gezuurd met een mengsel van melkzuurfermenten, aroma's en lactosegist, werd verkarnd onder de noodige voorzorgen, hadden tot resultaat, dat na 24 uur staan bij 20° de van eerstgenoemden room afkomstige karnemelk in het geheel niet, de lactosegist bevattende karnemelk zeer sterk inwendig was geschift (zie Fig. VI).

Deze verschijnselen deden vermoeden, dat de aanwezigheid van eene abnormaal groote hoeveelheid gasbelletjes in de karnemelk onder bepaalde omstandigheden de oorzaak zou kunnen zijn van later optredende inwendige schifting, te meer daar mij bekend was, dat het optreden daarvan in de praktijk dikwijls met succes wordt tegengegaan door de karnemelk in de karnemelkbak voortdurend langzaam door te roeren, waardoor een deel der ingesloten lucht weer zal kunnen ontwijken.

11) Uitgevoerd op analoge wijze als de karnproeven beschreven in: „Aromabacteriën en Botergebreken”, door F. W. J. BOEKHOUT en J. VAN BREYNUM; zie deze verslagen XXXII, 1927, biz. 415.



Inderdaad bleek dan ook door een aantal eenvoudige proeven, waarbij opzettelijk veel lucht of een ander gas in de karnemelk werd gebracht, dat daarna onder bepaalde omstandigheden inwendige schifting kan optreden.

De eenvoudigste wijze om dit te bereiken is wel door de karnemelk in een mengcylinder van bijv. 250 cc. inhoud gedurende korten tijd — 10 sec. is reeds voldoende — heftig met lucht te schudden. Was de karnemelk versch en de temperatuur bijv.  $16^{\circ}$  à  $18^{\circ}$ , dan trad gewoonlijk reeds binnen één uur na het schudden duidelijke inwendige schifting op, die daarna nog toenam en tenslotte een soortgelijk beeld vertoonde als in de gevallen, waarop Fig. IV en VI G betrekking hebben.

Dat het schudden der karnemelk niet op zich zelf de oorzaak der schifting kan zijn, blijkt wanneer men of voor het schudden de zich boven de karnemelk bevindende lucht door evacueeren wegneemt, of direct na schudden de nu in fijn verdeelden toestand aanwezige lucht door uitpompen verwijderd.

In beide gevallen blijft dan de inwendige schifting uit.

Eene andere wijze om gas in de karnemelk te verdeelen, was het daarin leiden van gas onder druk. Hierbij bleek, dat het inleiden van waterstof uit een fijne buisopening geen effect had; de gasbellen zijn dan blijkbaar nog te groot en verdwijnen weer te snel uit de vloeistof. Beter ging het met behulp van een poreuse holle cylinder („Berkefeld kaars”), waardoor de waterstof in den vorm van een groot aantal fijne gasbelletjes in de karnemelk werd geperst. Reeds enkele minuten inleiden was voldoende om in de zoo behandelde vloeistof bij staan in een cylinderglas gedurende 7 uur bij  $13^{\circ}$  een duidelijke schifting te veroorzaken, terwijl in een andere cylinder met dezelfde, niet met gas behandelde karnemelk, geen schifting optrad.

Dat de aanwezigheid van fijn verdeeld gas alleen niet voldoende is om inwendige schifting te veroorzaken, blijkt uit het volgende. Behalve de twee vorige cylinderglazen werd nog een derde gevuld met karnemelk, die eerst gedurende 48 uur bij  $20^{\circ}$  was bewaard geweest en daarna met waterstof werd behandeld. Deze karnemelk was ook na 24 uur staan bij  $13^{\circ}$  nog niet inwendig geschikt. (Zie Fig. VII.)

Dit laatste moet worden toegeschreven aan het feit, dat in de karnemelk na 48 uur staan bij  $20^{\circ}$  geen krachtige vlokvorming meer kon optreden.

Dit klopt met de waarneming, dat de schifting wel intreedt, wanneer de karnemelk in plaats van bij  $20^{\circ}$  eenige dagen bij  $0^{\circ}$  wordt bewaard en dan, na op kamertemperatuur gebracht te zijn, met waterstof wordt behandeld; het vlokvormend vermogen toch is bij  $0^{\circ}$  niet verloren gegaan. Wordt versche karnemelk op  $0^{\circ}$  gebracht en na waterstof inleiden weggezet bij  $0^{\circ}$ , dan treedt geen inwendige schifting in, omdat bij die temperatuur geen vlokvorming van betekenis plaats heeft, zoodat een groot deel van het gas spoedig ontwijkt.

Dezelfde verschijnselen treden op bij de vroeger genoemde wijze van inbrengen van lucht door schudden; ook daar is zoowel eene diepe en gehandhaafde afkoeling van de karnemelk, als ook een langdurig bewaren van de karnemelk bij kamertemperatuur (waarbij het al of niet constant houden van den zuurgraad van geen betekenis is) in staat, om na daaropvolgend schudden met lucht de schifting te doen uitblijven wegens het ontbreken van vlokvorming.



Fig. I  
(vergrooting  $1\frac{1}{2} \times$ ).

Spontane vlokvorming in karnemelk.

Van links naar rechts:

1. Eenige druppels karnemelk, uitgegoten na 18 uur bewaren bij 18°.
2. " " " " " " 18 " " " 13°.
3. Na 18 uur bij 18° te hebben gestaan werd de karnemelk goed gemengd en toen eenige druppels uitgegoten. Herstel der normale structuur 3 der karnemelk uit den grofvlokkigen toestand 1.

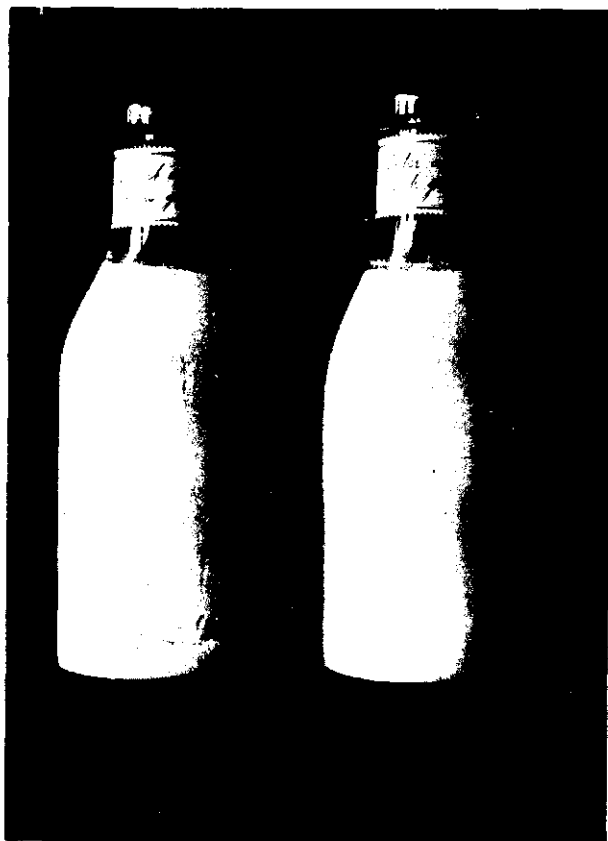


Fig. II.

Inwendige schifting van karnemelk.

Links: direct uit de karn getapt.

Rechts: later uit de karnemelkbak geschept.

Opname na 24 uur staan bij 20°.

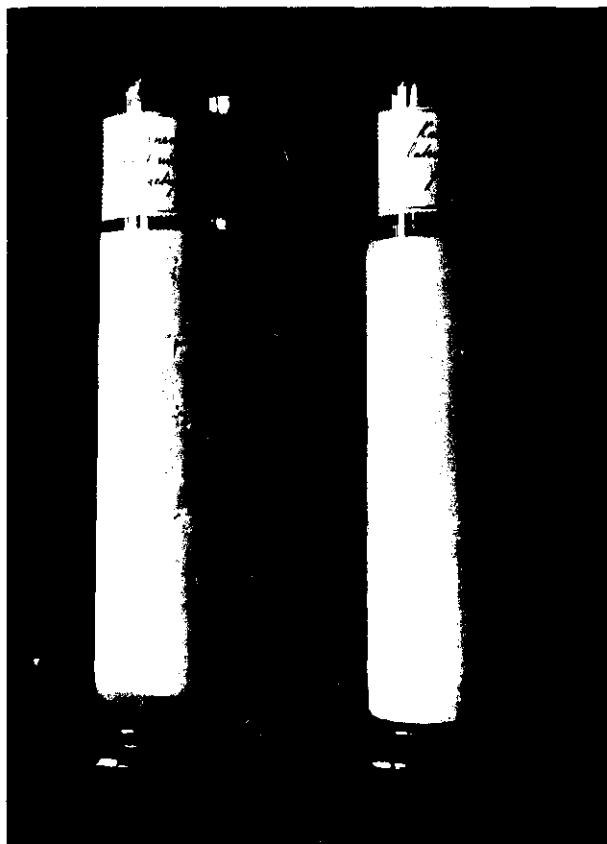


Fig. III.

Inwendige schifting van karnemelk.

Links: direct uit de karn getapt.

Rechts: later uit de karnemelkbak getapt.

Opname na 24 uur staan bij 15°.

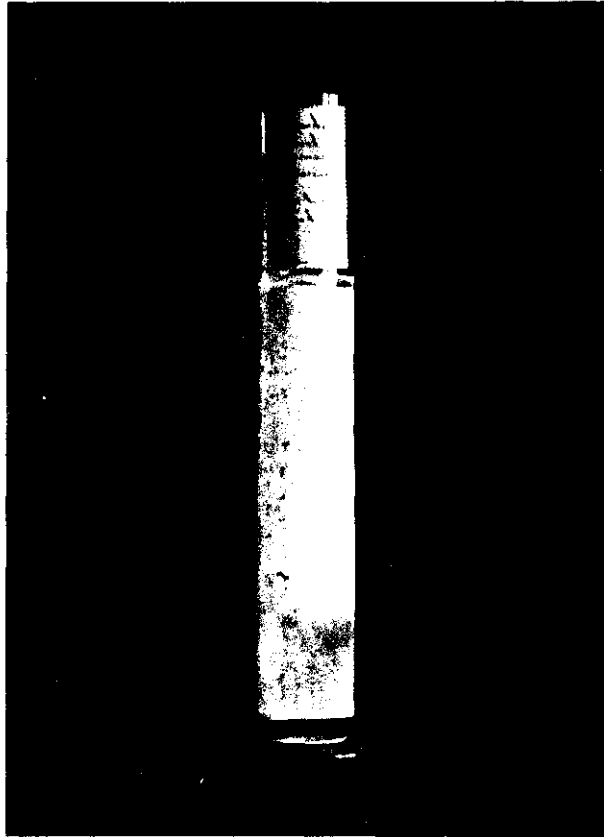


Fig. IV.

Inwendige schifting in gekarnde  
gezuurde ondermelk.  
Opname ongeveer 30 minuten na 't karnen.



Fig. V.

Inwendige schifting van karnemelk, na 24 uur staan bij 15°.

Van links naar rechts:

Gepompte karnemelk	I,	direct opgevangen uit de pomp.
"	"	II, geschept uit het opvangbakje.
Niet gepompte	"	I, uit de karnemelkbak geschept.
"	"	II, idem, doch ontgast in vacuo.



Fig. VI.

Inwendige schifting van karnemelk bij 20°  
door lactosegist.

K: karnemelk van room, gezuurd met een cultuur  
van melkzuur- en aromabacteriën.

G: karnemelk van dezelfde room, alsvoren gezuurd  
doch onder toevoeging van een cultuur  
van lactosegist.

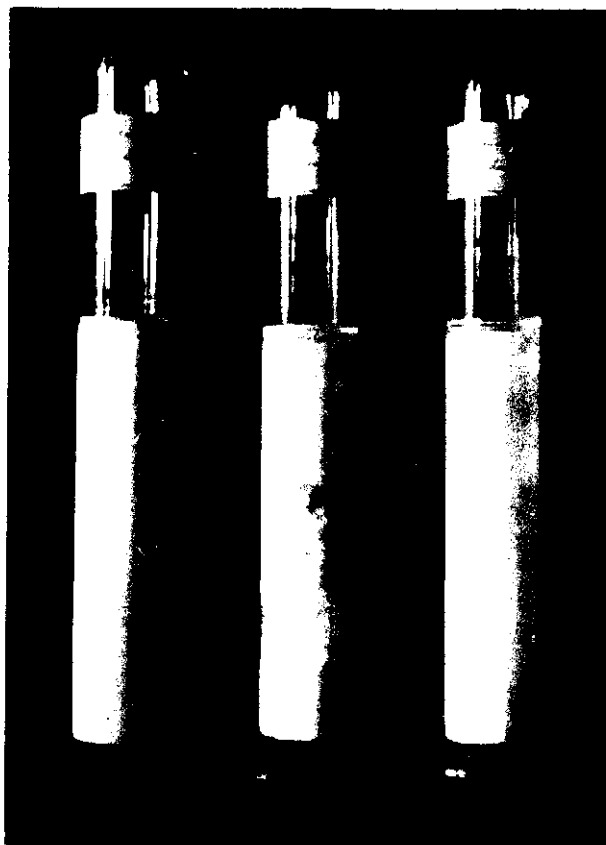


Fig. VII.

Inwendige schifting van karnemelk door ingevoerd gas.  
Opname na 24 uur staan bij 13°.

- |                               |  |
|-------------------------------|--|
| 1 <sup>e</sup> cyl. v. links: | Karnemelk zonder behandeling met waterstof.                      |
| 2 <sup>e</sup> " " "          | Karnemelk waarin 5 minuten waterstof geleid.                     |
| 3 <sup>e</sup> " " "          | eerst 48 uur bij 20° bewaard, toen 5 minuten waterstof ingeleid. |



Schifting door ingesloten gas kon ook te voorschijn geroepen worden door toevoeging van kleine hoeveelheden natriumbicarbonaat bijv.  $2\frac{1}{2}$  gram (in weinig water opgelost) per L. karnemelk. Na 24 uur staan bij  $18^{\circ}$  trad bij zulk eene proef inwendige shifting in door het zich ontwikkelende koolzuurgas. Worden voor het inspoelen na het karnen betrekkelijk groote hoeveelheden veel bicarbonaat-houdend nortonwater gebruikt, dan zal hierdoor de inwendige shifting der karnemelk, zooal niet veroorzaakt, dan toch mede bevorderd worden. Ook de waterstof, die zich na het inbrengen van een weinig zuiver zink in de karnemelk ontwikkelt, is in staat gebleken shifting te veroorzaken. Evenzoo de zuurstof, die we in de karnemelk kunnen laten ontwikkelen uit een weinig toegevoegd 30 % waterstofsuperoxyd onder invloed van de katalase, die we door een weinig centrifugemelk in de karnemelk te doen, op het waterstofsuperoxyd laten inwerken.

Het mengen van belangrijke hoeveelheden pas verkregen centrifugemelk, die veel lucht bevat, met karnemelk geeft eveneens aanleiding tot inwendige shifting.

Door al deze proeven is dus aangetoond, dat veel fijn in de karnemelk verdeeld gas in staat is, daarin shifting te veroorzaken en tevens, dat de vlokvorming daarbij een belangrijke rol vervult. Het opstijgen der caseïne, dat daarbij dikwijls voorkomt, wordt door het ingesloten gas veroorzaakt, dat zich een weg naar boven tracht te banen en te ontwijken, maar daarin niet slaagt, wanneer tengevolge van eene krachtige vlokvorming de inwendige weerstand sterk is verhoogd. Bevat de karnemelk betrekkelijk veel gas, doch niet zóóveel, dat het bij  $18^{\circ}$  of  $20^{\circ}$  tot eigenlijke inwendige shifting komt, dan kan eventueele oppervlakteshifting daardoor sterk vertraagd worden. Hierdoor kan het gebeuren, dat de oppervlakteshifting bij  $20^{\circ}$  minder sterk is dan bij  $15^{\circ}$ , doordat de caseïne bij  $20^{\circ}$  sterker door de gasbelletjes wordt omhoog gehouden dan bij  $15^{\circ}$ .

Waar nu door het karnproces de karninhoud, na met lucht verzadigd te zijn, al naar de omstandigheden, als karnsnelheid en bouw van de karn, voorzien wordt van een min of meer belangrijke hoeveelheid fijn verdeelde lucht, is het begrijpelijk, dat eene neiging tot schiften in vele gevallen reeds in de versche karnemelk aanwezig zal zijn. In den zomer zal, naarmate de temperatuur van de karnemelk stijgt, de kans op shifting toenemen, ten eerste omdat er dan nog lucht uit den opgelosten toestand vrijkomende, het aantal luchtbelletjes komt vermeederen, maar vooral ook omdat door de krachtige vlokvorming de lucht wordt vastgehouden. Wanneer de karnemelk, spoedig na het afkarnen, (dus zonder dat aan de ingesloten lucht en het bovenkomende schuim gelegenheid wordt gegeven om althans voor een groot deel te verdwijnen), zonder afkoeling in flesschen wordt getapt, waarbij misschien ook nog een pomp wordt gebruikt, dan zal de kans groot zijn, dat later inwendige shifting optreedt. Veel minder kans op inwendige shifting zal de karnemelk bieden, welke direct uit de karn sterk gekoeld wordt; daarbij wordt de vlokvorming belet en heeft de overmaat van lucht gelegenheid te ontwijken. Door eenige proeven op kleine schaal werd de invloed van zulk eene behandeling inderdaad aangetoond.

Een afdoend middel om de inwendige shifting te beletten, bleek — zooals te verwachten was — te zijn: het enkele minuten lang plaatsen van

de karnemelk in een sterk luchtverdunde ruimte. Misschien zou het mogelijk zijn dit beginsel op de een of andere wijze toe te passen in bedrijven, die veel last van inwendige schifting der karnemelk ondervinden, wanneer hierbij althans gisting-verschijnselen geen rol spelen.

Het is nu ook duidelijk, waarom de reeds lang toegepaste methode, namelijk het geruimen tijd langzaam en voortdurend roeren in de karnemelk in vele gevallen een goede uitwerking heeft. Vlokvorming wordt aldus belet en het ontwijken van ingesloten gas bevorderd. Toch zal het kunnen voorkomen, dat ook dit middel niet baat, in de eerste plaats natuurlijk, wanneer de schifting een gevolg is van verkeerde zuring, hetzij dat veel te kort is gezuurd, hetzij dat geen voldoende zuiver zuursel is gebruikt, waardoor gasvorming in de karnemelk ontstaat. Maar ook wanneer men te laat begonnen is met roeren van eene veel lucht bevattende karnemelk, waarin reeds, ongemerkt misschien, belangrijke inwendige schifting was opgetreden, zal men geen zeer goede karnemelk meer kunnen verkrijgen. Behalve dat dan de fijne verdeeling der caseïne niet zoo gemakkelijk meer is te herstellen, dus ook de verwijdering der lucht moeilijker gaat, geeft de veranderde structuur der caseïne later allicht aanleiding tot het ontstaan van oppervlakteschifting.

Door sterk optredende inwendige schifting toch, wordt de caseïne onder invloed van de opstijgende en zich verzamelende luchtbelletjes en waarschijnlijk onder medewerking der vlokvorming (die immers als eene beginnende, doch nog omkeerbare scheiding in caseïne en serum kan worden beschouwd) zoodanig gednatureerd, dat de aanvankelijke fijne en losse structuur der vlokken blijvend verloren gaat. Het gevolg hiervan is, dat de als het ware eenigszins samengeperste caseïne, na doorenmengen en roeren der karnemelk grover van structuur blijft en dat zij sneller bezinkt in de later in flesschen getapte karnemelk, die dan dus oppervlakteschifting vertoont. Diepe koeling vóór het aftappen zal dit in zoo'n geval niet meer afdoend kunnen verhelpen, al zal de bezinking er iets door vertraagd kunnen worden. Ook wanneer 's zomers de karnemelk geruimen tijd aan te hooge temperaturen wordt bloot gesteld, bijv. tusschen 20° en 25°, zal het verschijnsel van denaturatie der caseïne kunnen intreden, afgezien van de verhoogde kans, dat in zulke karnemelk ongewenschte gasvormende micro-organismen gaan optreden. Zoowel om oppervlakteschifting als inwendige schifting te voorkomen is het bewaren der karnemelk bij een zoo laag mogelijke temperatuur dus gewenscht.

Na het voorgaande valt ook over de schifting, die tengevolge van onvoldoende roomzuring kan optreden en over de waarschijnlijke oorzaken daarvan nog iets naders te zeggen.

Bij de vroegere bespreking van tabel VIII werd er reeds op gewezen, dat na 48 uur bewaren bij temperaturen van  $\pm 15^\circ$  de na onvoldoende zuring verkregen karnemelk  $K_0$  wel geregeld oppervlakteschifting, doch slechts zelden inwendige schifting vertoonde, maar dat dit laatste als regel wel het geval was bij 20°. (Zie kolom 6 en 8.) De verklaring hiervan is nu waarschijnlijk, behalve in het feit, dat het ingesloten gas bij 20° een grooter volume inneemt dan bij 15° en daardoor gemakkelijker de opstijging der

caseïne kan bewerken, gelegen in het dehydratatieproces, waaraan de caseïne bij 20° bloot staat, waardoor zij na eenigen tijd gemakkelijker tot een klein volume kan worden samengedrukt.

Hier is waarschijnlijk dezelfde factor werkzaam, die bij 20° ook de bezinking der caseïne bij de oppervlakteschifting zoo sterk bevorderde onder invloed van de zwaartekracht. Verder speelt de bij 20° grootere kans op gasontwikkeling van eenige beteekenis door microörganismen hierbij wellicht ook nog een rol.

Uit kolom 8 van tabel VIII blijkt ook nog, dat wanneer (zooals bij de proefnemingen VI t/m XII) gelijktijdig in 2 proefkarntjes kort gezuurde room en ondermelk van dezelfde melk afkomstig, was gekarnd, de room-karnemelk na 48 uur staan bij 20° minder sterke inwendige schifting vertoonde dan de gekarnde ondermelk. Gezien de groote invloed van het gasgehalte der karnemelk, is het waarschijnlijk, dat verschillen in dit opzicht de oorzaak zijn van het genoemde verschijnsel; het sterkere schuimen van gekarnde ondermelk (dat voor centrifugemelk zelfs zoo sterk is, dat zij niet voor deze proeven bruikbaar is) wijst althans ook in die richting.

Volgens kolom 15 en 16 is bij de karnemelk  $K_0$  met in onvolledigen zwellingstoestand verkeerende caseïne, de toename van den inwendigen weerstand door de vlokvorming veel geringer dan bij normale karnemelk  $K_v$ . Hierdoor zal enerzijds in  $K_0$  langer gelegenheid bestaan voor de grootere luchtbellen om nog te ontwijken, doch hier staat tegenover, dat door den geringeren inwendigen weerstand het opstijgen door samendrukking der caseïne bij  $K_0$  gemakkelijker kan geschieden dan bij  $K_v$ , die vooral bij 20° spoedig zeer visceus wordt. De eerste omstandigheid is niet bevorderlijk voor inwendige schifting, de tweede wel. Het feit, dat  $K_0$  bij 20° steeds zooveel gemakkelijker schift dan  $K_v$ , doet vermoeden, dat de tweede omstandigheid den meesten invloed heeft, doch zeker is dit niet.

Nu is het echter zeer goed mogelijk, dat in  $K_0$  direct na het karnen belangrijk meer fijnverdeelde lucht voorkomt dan in  $K_v$ , omdat de reeds direct na begonnen schifting gekarnde room  $R_0$  veel minder visceus was en dus in heftiger beweging kon worden gebracht dan de goed doorgezuurde room  $R_v$ , waarvan  $K_v$  afkomstig is. Dit meerdere gasgehalte zou dan tenslotte de hoofdoorzaak kunnen zijn der dikwijls bij 20° optredende inwendige schifting van  $K_0$ , daar de vlokvorming bij 20°, hoewel minder krachtig dan in  $K_v$ , nog sterk genoeg is om hieraan mee te werken, hetgeen, zooals we vroeger gezien hebben, noodzakelijk is, wil er van inwendige schifting sprake zijn.

Inderdaad bleek bij een vergelijkend onderzoek naar het gasgehalte van een aantal karnemelken, van kort gezuurden room afkomstig, dit geregeld hooger te zijn dan van de overeenkomstige door normale zuring verkregen karnemelken.

Dit onderzoek kon geschieden, zoowel langs volumetrischen weg, door meting van het uit de karnemelk door plaatsing in een sterk luchtverdunde ruimte, vrij te maken gas, alsook door telling en meting van de in eene bepaalde kleine hoeveelheid karnemelk aanwezige gasbelletjes onder het microscoop.

Bij de eerste methode werd 100 cc. karnemelk in een maatcylinder afgemeten en deze in een wijd glas van 2 L. inhoud geplaatst, waarin zooveel

uitgekookt gedistilleerd water werd gedaan, dat de opening van den maatcylinder er nog even boven uitstak. In dit wijde glas werd tevens gereed gezet, met de opening naar beneden, een geheel met water gevulde klok-vormige 20 c.M. hooge meetbuis met een nauw cilindrisch in tiende cc.'s verdeeld bovineind, bestemd om later, na overstulping over den maatcylinder met karnemelk, het hieruit bij evacueeren vrijkomende gas op te vangen. De maatcylinder werd echter eerst voorzichtig met uitgekookt water uit een pipet geheel aangevuld, daarna werd een roerder van koperdraad, zóó gebogen, dat ook na opzetten van de meetbuis nog geroerd kon worden, in de karnemelk gezet (waarbij geen merkbaar gasverlies plaats heeft) en tenslotte werd, terwijl door ingieten van meer water in het glas de maatcylinder geheel onder het oppervlak verdween, de meetbuis er overheen geplaatst en in een statieffe vastgezet.

Nadat de karnemelk flink was doorgeroerd, waarbij reeds een weinig gas vrij kwam, werd alles onder een groote vacuüm klok, met doorboorde stop met af- en aanvoerbuizen voor lucht, geplaatst en de lucht langzaam uit de klok verwijderd tot op enkele centimeters kwikdruk. De fijne in de karnemelk aanwezige luchtbelletjes nemen dan zoo sterk in omvang en stijgkracht toe, dat zij gemakkelijk en snel uit de door roeren fijn gemaakte caseïnevlokken ontsnappen en zich boven in de meetbuis verzamelen. Na 5 minuten handhaving van het vacuüm, toelaten van lucht en verwijdering van de vacuüm klok, werd het doorroeren van de karnemelk nog eens herhaald en weder 5 minuten onder de klok geëvacueerd. Na opheffing van het vacuüm werd het verkregen gasvolume in de meetbuis afgelezen.

Deze methode werd op een aantal karnemelken  $K_o$  en  $K_v$ , van gelijktijdig gekarnde, resp. onvoldoend en voldoende gezuurden room afkomstig, toegepast; de resultaten zijn in tabel IX verzameld. Zooals uit kolom 3 en 4 blijkt, bevat kort na het karnen  $K_o$  steeds meer gas dan  $K_v$ . Bij de eerste vier proefnemingen neemt het gasvolume der karnemelk bij 2 dagen staan bij 15° à 16° sterk toe, zoowel bij  $K_o$  als  $K_v$ , doch de eerste blijft ook dan steeds meer gas bevatten dan de tweede. De hiermee blijkbaar in verband staande grotere neiging van  $K_o$  tot inwendige schifting bij 20°, blijkt uit kolom 7 en 8. Nu is bij de proefnemingen 1, 3 en 4 de caseïne van  $K_v$  ook min of meer opgestegen, wat bij de overige proeven (zie tabel VIII, kolom 9) slechts 1 maal het geval was. Dit en de belangrijke toename van het gasvolume na 2 dagen staan bij 15° à 16° wijst op de aanwezigheid van micro-organismen, die meer gas ontwikkelen dan gewoonlijk het geval is. Bij gebruik van goed zuursel toch, zullen slechts de, naast de geen of slechts sporen gas ontwikkelende melkzuurfermenten voorkomende aromabacteriën, een weinig koolzuur produceren. <sup>12)</sup>

Bij de proeven 5, 6 en 7 werden daarom nog eens extra-voorzorgen tegen bacteriële verontreiniging genomen, zooals herhaalde en langdurige behandeling der proefkarns met heete sodaoplossing en later met alcohol, steriliseeren van al het gebruikte glaswerk, enz.

De toename van het gas in de karnemelk bij 2 dagen staan was nu inder-

12) Associates of L. A. ROGERS. Fundamentals of Dairy Science 1928, pg. 279 en 284.  
S. KNUDSEN and A. SÖRENSEN. Contrib. to the bacteriology of starters. Royal veterinary and agric. College, Copenhagen. Yearbook 1929, pg. 131.

daad geringer, zooals uit de cijfers van kolom 3 en 4 bij de proefnemingen 5, 6 en 7 blijkt. Ook het gedrag van  $K_v$  bij staan bij  $20^\circ$  was nu weer normaal, daar hierbij in tegenstelling met  $K_o$ , nu weer alleen geringe bezinking, geen inwendige schifting was te constateeren. Maar ook hier bevatte  $K_o$  steeds meer gas dan  $K_v$ .

Hiermee is dus wel aangetoond, dat de karnemelk van onvoldoend gezuurden room doorgaans meer gas bevat dan op dezelfde wijze gekarnde en van dezelfde melk afkomstige karnemelk na normale roomzuring verkregen.

TABEL IX.

Proef-nummer.	Gasvolumen uit 100 cc. karnemelk in cc's.			Aantal gas-belletjes per gram km.		Bezinking en opstijging der caseïne na 48 uur bij $20^\circ$	
		$K_o$	$K_v$	$K_o$	$K_v$	$K_o$	$K_v$
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Direct na 't karnen Na 2 dagen bij $15^\circ$	2.8 > 5	1.8 2.9	3020	1418	34 % opst. cas.	25 % opst. cas.
2	$\pm$ 1 uur na 't karnen Na 2 dagen bij $16^\circ$	2.6 4.2	1.5 2.6	1687	936	sterke inw.schifting	3 % bezinking
3	Direct na 't karnen Na 2 dagen bij $16^\circ$	1.95 5.0	1.2 3.2	1408	784	38 % opst. cas.	7 % opst. cas.
4	Direct na 't karnen Na 2 dagen bij $15^\circ$	2.8 4.0	0.9 3.2	828	603	19 % opst. cas.	6 % opst. cas.
5 (onder bact. voorzorgen)	Direct na 't karnen Na 2 dagen bij $15^\circ$ " 2 " " $20^\circ$	3.2 3.0 4.2	1.5 1.7 1.8	568	203	10 % opstijging caseïne	4 % bezinking caseïne
6 (onder bact. voorzorgen)	Direct na 't karnen Na 2 dagen bij $13^\circ$ – $14^\circ$ Na 2 dagen bij $20^\circ$	1.9 2.4 2.6	1.2 1.3 2.0	646	528	8 % opstijging caseïne	1 % bezinking caseïne
7 (onder bact. voorzorgen)	Direct na 't karnen Na 2 dagen bij $13^\circ$ – $14^\circ$ Na 2 dagen bij $20^\circ$	3.5 3.75 3.55	1.75 2.4 3.25	935	104	30 % opstijging caseïne	2 % bezinking caseïne

Bij de tweede, de microscopische methode, werden de in een bepaalde hoeveelheid karnemelk aanwezige gasbelletjes geteld en gemeten. Wegens de zeer kleine hiervoor te gebruiken hoeveelheden moest de menging der karnemelk telkens zeer zorgvuldig en direct voor het onderzoek plaats vinden.

Een grotere moeilijkheid veroorzaakte de noodzakelijkheid om zeer dunne lagen te onderzoeken, daar de doorzichtigheid anders niet voldoende was; hierdoor werd de kans groot, dat er bij het vullen van een glazen kamertje of kuipglasje van bijv. 0.5 m.M. hoogte reeds gasbelletjes zouden ontsnappen, vóór het van boven was afgesloten. Dit was dan ook waarschijnlijk de reden, waarom de parallelbepalingen, met zulke glaasjes uitgevoerd, slecht overeenstemden. Daarom werd overgegaan tot het gebruik van dunwandige capillairen, met een inwendigen diameter van hoogstens 0.6 m.M., waarvan de lengte soms ruim 40 c.M. moest worden genomen om een voldoende hoeveelheid karnemelk te kunnen bergen voor de meting van een groot aantal gasbelletjes. De uitwendige diameter bedroeg  $\pm 0.8$  m.M.

Zulk een capillair werd, na met 0.05 à 0.1 gram pas gemengde karnemelk door langzaam opzuigen bijna geheel gevuld te zijn, met behulp van een paar veerende klemmetjes op de beweegbare kruistafel met millimeterverdeling van een microscoop bevestigd. Telkens kon van een bepaald merk op de capillair af, door geleidelijke verschuiving daarvan over 5 c.M., achtereenvolgens al de daarin aanwezige gasbelletjes geteld en hun diameter bepaald worden met behulp van een oculairmicrometer, waarvan bij de gebruikte combinatie (oculair 4, objectief A, oogbuis ingeschoven) 1 verdeling overeenkwam met 0.016 m.M. Naarmate er veel of weinig gasbelletjes in de karnemelk voorkwamen, werden door verplaatsing van de capillair slechts enkele of meer trajecten van 5 centimeter onderzocht. Door weging van de capillair voor en na de vulling en bepaling van het onderzochte en het totaal in de capillair aanwezige aantal centimeters karnemelk, kon dan berekend worden hoeveel gasbelletjes ongeveer in 1 gram karnemelk aanwezig waren. Gasbelletjes met een diameter van  $\pm 0.01$  m.M. konden nog goed worden waargenomen, doch kwamen zelden voor, die van 0.05 m.M. waren reeds vrij talrijk, slechts weinig gasbelletjes hadden een diameter groter dan 0.25 m.M. Het totale aantal liep zeer uiteen en wisselde bij een groot aantal monsters tusschen 100 en 5000 per gram karnemelk.

Voor het vergelijkend onderzoek werden de gemeten gasbelletjes in 3 groepen verdeeld; die van groep I hadden een diameter kleiner dan 0.1 m.M., groep II 0.1 tot 0.2 m.M., groep III groter dan 0.2 m.M.

In de eerste plaats werden eenige malen een aantal parallelbepalingen in dezelfde karnemelk (afkomstig van de proefzuivelboerderij) verricht, om te zien hoe deze onderling zouden overeenstemmen. Nadat eenig eventueel bovendrijvend schuim van de karnemelk was afgeschept en zij een paar maal door langzaam overgieten goed was gemengd, werden 3 gewogen capillairen gevuld, waarbij vóór de 2de en 3de vulling de karnemelk weer even werd doorgemengd. Na weging van de capillair en meting van de lengte van het gevulde deel, werden bij elke capillair over het eerste, derde en vijfde vijftal centimeters het aantal en de diameters der gasbelletjes bepaald, wat voor

elke capillair  $\pm$  30 minuten vereischte. Het resultaat van deze metingen vindt men in tabel X.

TABEL X.

	Capillair I met 25.3 cm. = 37 mgr. km.	Capillair II met 29.7 cm. = 57.5 mgr. km.	Capillair III met 26.3 cm. = 45 mgr. km.
Gemeten over 15 cm.	66 gasbelletjes.	101 gasbelletjes.	87 gasbelletjes.
Groep I bevat . . .	42 stuks of 63 %	56 stuks of 55 %	50 stuks of 58 %
" II " . . .	17 " " 26 %	43 " " 43 %	34 " " 39 %
" III " . . .	7 " " 11 %	2 " " 2 %	3 " " 3 %
Totaal . . . . .	66 stuks of 100 %	101 stuks of 100 %	87 stuks of 100 %
Per gram karnemelk .	3009 stuks	3478 stuks	3390 stuks.

Bij een andere karnemelk werd per gram 5238, 4089 en 4883 gasbelletjes gevonden, bij een derde 2643, 2462 en 2453 en bij een vierde in 2 capillairen 2533 en 2851 stuks, alles in gewone karnemelk van de Proefzuivelboerderij.

In aanmerking genomen de kleine hoeveelheden karnemelk, die onderzocht werden en de zich voortdurend wijzigende verdeling der gasbelletjes door opstijging daarvan, ook tijdens de monsternamen, is de overeenstemming tusschen de parallelbepalingen vrij goed, althans voldoende voor het doel van dit onderzoek, namelijk om de tusschen 2 karnemelken eventueel bestaande groote verschillen in gehalte aan gasbelletjes op te sporen.

Met behulp van deze methode werd nu bij alle 7, in tabel IX vermelde karnproeven in kleine laboratoriumkarns met kort en lang gezuurden room, nagegaan of er in het gehalte aan gasbelletjes van de karnemelken, van genoemden room afkomstig, ook soms regelmatige aanzienlijke verschillen waren te constateeren.

Zooals uit kolom 5 en 6 van tabel IX blijkt, is bij alle proeven in de karnemelk  $K_0$  van onvoldoend gezuurden room een grooter aantal gasbelletjes aangetroffen dan in de normale karnemelk  $K_v$ , in 5 gevallen zelfs 80—800 % meer. Alleen in proefneming 6 is het verschil wat klein voor een bepaalde conclusie.

Wat de verdeling der gasbelletjes naar de grootte betreft, opvallende verschillen kwamen in dit opzicht tusschen  $K_0$  en  $K_v$  niet voor, zoodat mededeling van al de groepecijfers wel achterwege kan blijven; alleen kan vermeld worden, dat, evenals bij de 4 boven besproken fabriekskarnemelken, de grootste gasbelletjes (groep III) overal percentsgewijs het geringst in aantal voorkwamen, bij  $K_0$  was dit aantal (gemiddeld  $\pm$  15 %) nog kleiner dan bij  $K_v$  (gemiddeld 25 % van het totaal).

Karnemelk van onvoldoend gezuurden room bevat dus per gram meer gasbelletjes dan normale karnemelk, bovendien is in eerstgenoemde het percentage kleinere gasbelletjes grooter dan in de laatste, waardoor de kans op ontsnapping bij staan der eerste karnemelk minder groot is.

Beide factoren zijn gunstig voor het tot stand komen van inwendige schifting in de van kort gezuurden room afkomstige karnemelk; vooral de eerste factor zal daarbij ongetwijfeld een belangrijk aandeel hebben.

Overigens is het vermogen der karnemelk om luchtbelletjes vast te houden merkwaardig groot; waarschijnlijk speelt het vlokvormend vermogen hierbij een voornamelijke rol. Zoo kon onder het microscoop worden geconstateerd, dat een betrekkelijk groot gasbelletje van  $\pm 0.2$  m.M. diameter, dat zich in de karnemelk ongeveer in de as van de capillair bevond, niet in staat was op te stijgen, maar onbewegelijk werd vastgehouden.

Bij de eerste proeven met de methode der gasbepaling in capillairen was een paar maal geconstateerd, dat wanneer het onderzoek bij eene hoogere dan karntemperatuur werd verricht, het volumen der gasbelletjes vrij snel veranderde, soms toenam en soms afnam, wat voor de metingen niet gewenscht was. Daar de hoogere temperatuur hierbij een rol kon spelen, werden later de metingen in een kouder vertrek steeds bij karntemperatuur of iets lager verricht. Ook toen bleek nog, dat het volumen der gasbelletjes op den duur niet constant bleef; reeds na 4 uur en nog meer na 24 uur was het volumen der meeste belletjes toegenomen, ofschoon ook bij de kleinere gasbelletjes inkrimping of zelfs verdwijning voorkwam. Dit zou misschien gedeeltelijk uit een verschil in oppervlaktespanning zijn te verklaren, daar er bij het ingesloten gas eene neiging moet bestaan om uit te kleinere gasbelletjes met grootere oppervlaktespanning over te gaan naar de grootere met kleinere oppervlaktespanning.

De toename was echter bij de grootere gasbelletjes te aanzienlijk om alleen hierdoor verklaard te kunnen worden; ook kan zij niet worden toegeschreven aan verontreiniging met ongewenschte gasvormende microörganismen, daar bij de onder bijzondere voorzorgen hiertegen genomen proefnemingen 5, 6 en 7 (zie tabel IX) de volumetoename der gasbelletjes eveneens aanzienlijk was.

Het verschijnsel is echter geheel in overeenstemming met hetgeen tegenwoordig wordt aangenomen, dat namelijk ook bij gebruik van goed zuursel eenig koolzuurgas wordt gevormd en wel voornamelijk door de aromabacteriën. Het was nu wel interessant om eens te zien of bij zuring met een cultuur van melkzuurfermenten alleen, dus met uitsluiting van aromavormers, de toename van het volume der gasbelletjes in de karnemelk ook veel geringer zou zijn dan bij zuring met een cultuur van melkzuur- en aromabacteriën samen.

Daartoe in staat gesteld door de bacteriologische afdeling van dit Proefstation, die over zulke culturen beschikte, werd in de eerste plaats een karnproef aangezet met 2 hoeveelheden room, die met een uitsluitend melkzuurfermenten bevattend zuursel werden gezuurd; de eene portie room  $R_0$  werd tot beginnende schifting gezuurd, de andere  $R_v$  tot de room flink dik geworden was. Opvallend was hierbij, dat het visceuser worden van den room bij vrij wat lager zuurheidsgraad intrad dan bij de gewone zuring met fabriekszuursel. Zooals steeds, werd direct na karnen uit de van  $R_0$  afkomstige karnemelk  $K_0$  bij evacueeren meer gas opgevangen dan uit de karnemelk  $K_v$  van den langer gezuurden room. Het aantal gasbelletjes, onder-



zocht in direct na het karnen gevulde en daarna dichtgesmolten, steriele capillairen, was bij het eenige uren later plaats hebbende onderzoek bij 14° bijzonder klein, per gram karnemelk bij  $K_0$  en  $K_v$  slechts resp. 229 en 32 stuks. Het belangrijkste was echter, dat het volume der gasbelletjes bij 14° na 24 uur algemeen vrij sterk achteruitgegaan bleek te zijn; vele der gasbelletjes waren zelfs geheel onzichtbaar geworden. In overeenstemming hiermee bleek ook het gasvolumen, dat door evacueeren uit 100 cc. karnemelk verkregen kon worden, bij herhaling der bepaling in een duplo-monster, na 2 dagen staan der karnemelk bij 13° veel kleiner te zijn. In verband hiermee is het vermeldenswaard, dat een cylinder met 100 cc. van  $K_0$  bij staan gedurende 48 uur bij 20° niet, zooals regel is, opstijging der caseïne vertoonde, doch alleen oppervlakteschifting, waarschijnlijk dus door vermindering van het aantal en het volumen der gasbelletjes. Hoe dit, vooral in de gesloten capillairen, in zoo aanzienlijke mate kan geschieden, is nog niet geheel duidelijk, al bestaat de mogelijkheid, dat door voortgezette bacteriënwering de zuurstof uit de gasbelletjes wordt verbruikt.

Een andere karnproef in de laboratoriumkarns werd nog aangezet met twee gelijke hoeveelheden room, waarvan de eene (Rmf) weer gezuurd was met een uitsluitend melkzuurfermenten bevattend zuursel, de andere (Rmf+ar.) met zuursel bestaande uit melkzuurfermenten en aromabacteriën. De zuring had in beide gevallen plaats tot  $\pm 53$  N/10 (filtraat 44 à 45), waarbij reeds schifting was ingetreden; evenwel was Rmf+ar. toen duidelijk minder visceus dan Rmf; ook werd dezelfde zuurheidsgraad bij de eerste veel later bereikt dan bij de tweede. De zuring werd opzettelijk niet verder voortgezet — de roomen werden in ijs geplaatst tot den volgenden morgen — om later meer kans te hebben op een voldoende aantal gasbelletjes voor de telling. De beide hoeveelheden room werden gelijktijdig met dezelfde snelheid en bij dezelfde temperatuur (14°) gekarnd en de karnemelk Kmf en Kmf+ar. direct onderzocht.

Het aantal gasbelletjes bedroeg in Kmf 2020, in Kmf+ar. 5082. Dit verschil is waarschijnlijk toe te schrijven aan de bovenvermelde grootere bewegelijkheid van den gekarnden room Rmf+ar. Ook het direct na karnen door evacueeren verkregen gasvolumen was bij Kmf+ar. het grootst (4.6 cc. tegen 3.5 cc. bij Kmf).

Wat nu het af- of toenemen betreft van het volumen der gasbelletjes in de capillairen, bij Kmf waren er vele, vooral onder de kleinere, die in volumen afnamen of zelfs verdwenen, maar er was toch ook een aantal wier volumen iets toenam. Bij Kmf+ar. waren er veel meer, vooral onder de grootere, die groei vertoonden; van de kleinere namen echter verscheidene in volume af.

Hoewel het waarschijnlijk was, dat het totale volume der gasbelletjes bij Kmf wel niet zou zijn toegenomen en dat dit bij Kmf+ar. wel het geval zou zijn, kon dit alleen met zekerheid worden uitgemaakt door berekening van de volumina van een zeker aantal gemeten gasbelletjes, wier diameter op verschillende tijden werd bepaald. Bij Kmf werden aanvankelijk in 10 c.M. van den capillair de diameter bij 48 gasbelletjes gemeten en dit werd 2 dagen later bij dezelfde gasbelletjes herhaald. Hieruit kon berekend worden, dat het totale volume dier gasbelletjes in dien tijd 6.3 % was afge-

nomen; op dezelfde wijze werd door tweemaal meten van 33 gasbelletjes in 5 c.M. van den met Km<sub>f</sub>+ar. gevulden capillair gevonden, dat het totale gasvolume hier met 94 % was toegenomen. Er is dus een duidelijk verschil.

Uit deze en de vorige proef blijkt dus, dat de vroeger meermalen geconstateerde toename van het volumen der gasbelletjes waarschijnlijk aan de koolzuur-vorming door de aromabacteriën zal moeten worden toegeschreven. Dat de aroma-vormers hierdoor de inwendige schifting in de karnemelk in de hand kunnen werken, bleek uit het feit, dat na 48 uur bewaren bij 20° van een cylinder met Km<sub>f</sub>+ar. daarin belangrijke caseïne-opstijging had plaats gevonden, terwijl dit in Km<sub>f</sub>, evenals bij de vorige proef, geheel uitbleef. De aromavormers in een zuursel kunnen dus onder bepaalde omstandigheden aanleiding geven tot het optreden van inwendige schifting in de karnemelk, bijv. wanneer het gasgehalte daarin toevallig toch al vrij hoog was of misschien bij geringe of onvoldoende zuring van den room.

Waar het gasgehalte der karnemelk op het al of niet optreden van inwendige schifting zooveel invloed heeft, is het denkbaar, dat de snelheid, waarmee gekarnd wordt, ook een rol hierbij speelt. Enkele vergelijkende proeven werden hierover genomen.

Een room met 20 % vet werd tot 73 cc. N/10 gezuurd en na één nacht in ijs gestaan te hebben in drie gelijke deelen verdeeld. Achtereenvolgens werden deze in een zelfde kleine Holsteinsche laboratoriumkarn bij dezelfde temperatuur, doch bij sterk uiteenlopende snelheden gekarnd en wel bedroeg het toerental van het slagwerk resp. 560, 395 en 245 toeren per minuut. De karntijd bedroeg resp. 13, 23 en 74 minuten, het vetgehalte der karnemelk 0.28 %, 0.24 % en 0.26 %. In tabel XI, waar de 3 karnemelken met K 560, K 395 en K 245 zijn aangeduid, zijn de resultaten verzameld van het onderzoek op gasvolumen bij evacueeren van 100 cc., van de telling der gasbelletjes onder het microscoop en het gedrag der karnemelk bij 2 dagen staan bij 20° en bij centrifugeeren in buizen.

TABEL XI.

Proef- num- mer.	Gasvol. verkregen bij evacueeren van 100 cc. km. in cc's.			Aantal gasbelletjes per gram karnemelk.			Opstijging of bezinking der caseïne na 2 dagen bij 20°.			Bezinking der caseïne na 5 min. centrifug. op ± 2700 toeren per min.		
1	K 560 3.95	K 395 3.15	K 245 1.95	K 560 5688	K 395 4218	K 245 274	K 560 17 % opst.	K 395 2 % bez.	K 245 2 % bez.	K 560 25 %	K 395 20 %	K 245 18 %
2	K 566 2.75	K 302 1.35	—	K 566 5122	K 302 1268	—	K 566 20 % opst.	K 302 3 % bez.	—	K 566 30 %	K 302 18 %	—
3	K 560 5.5	K 300 3.1	—	—	—	—	K 560 30 % opst.	K 300 2 % bez.	—	K 560 28 %	K 300 23 %	—
4	K 565 3.6	K 307 1.45	—	—	—	—	K 565 38 % opst.	K 307 3 % bez.	—	K 565 35 %	K 307 32 %	—

Men ziet uit de cijfers van proefnummer 1, in tabel XI, dat naarmate de karnsnelheid grooter was, ook het gasvolume bij evacueeren grooter werd gevonden en evenzoo het aantal gasbelletjes per gram karnemelk. Wat de schifting betreft, alleen de met de grootste karnsnelheid verkregen karnemelk vertoonde opstijging der caseïne. De andere 2 karnemelken gedroegen zich, zooals dit vroeger als regel na voldoende roomzuring en bij een normale karnsnelheid van  $\pm 300$  toeren het geval was: er trad slechts een zeer matige bezinking der caseïne op.

Eigenaardig is, dat de bezinking der caseïne bij gelijktijdig centrifugeeren der 3 karnemelken des te sterker was, naarmate de karnsnelheid grooter was geweest. Het verschillend gasgehalte der karnemelk kan hier niet de oorzaak zijn, want ook wanneer het gas er eerst door plaatsen in vacuo uit werd verwijderd, bleef het bedoelde verschil in bezinking bestaan. Bovendien, toen bij een paar andere gelijksoortige proefnemingen tevens in de 5 maal met karnemelkfiltraat verdunde karnemelk de bezinking na bepaalden tijd werd nagegaan, bleek deze bij de karnemelk van den snelst gekarnden room ook weer het grootst te zijn. Waarschijnlijk wordt door een zeer snelle karnbeweging de structuur der caseïne in denzelfden zin ongunstig beïnvloed als dit vroeger bij een matige verwarming ook reeds bleek te geschieden.

Bij de overige in tabel XI bedoelde proefnemingen 2, 3 en 4 werden 2 porties van denzelfden room met 2 verschillende karnsnelheden gekarnd, aangegeven door het achter K geplaatste cijfer. De gasvolumina en het aantal gasbelletjes (voor zoover bepaald) en ook de bezinking of opstijging waren weer geheel in overeenstemming met hetgeen bij de eerste proef was gevonden, dus meer gas, inwendige schifting en sterkere bezinking bij centrifugeeren, wanneer er met abnormaal groote snelheid was gekarnd.

Tenslotte mogen nog enkele op zich zelf staande karnproeven worden vermeld, die werden genomen naar aanleiding van bij sommigen bestaande meeningen over de mogelijke oorzaken van karnemelkschifting.

Zoo heeft men wel eens als zoodanig beschouwd een te hooge zurings- of een te hooge karntemperatuur. Van deze twee factoren werd eerst de invloed van de zuringstemperatuur nagegaan.

Ruim 5 L. room met  $\pm 20$  % vet werd na korte pasteurisatie tot  $80^\circ$  met 8 % zuursel gezuurd, de eene helft ( $R_{12}$ ) bij  $11^\circ$  à  $12^\circ$  gedurende 30 uur, de andere ( $R_{20}$ ) bij  $20^\circ$  gedurende  $9\frac{1}{2}$  uur, de zuurheidsgraad was toen bij beide  $\pm 75$  N/10, zij werden daarna geruimen tijd in ijs gezet. Vervolgens werden beide hoeveelheden room gelijktijdig, dus met dezelfde snelheid bij  $14^\circ$  in de laboratoriumkarntjes gekarnd, onder toevoeging van eenig inspoelwater (10 % in het karnsel).

De van  $R_{12}$  en  $R_{20}$  afkomstige karnemelken  $K_{12}$  en  $K_{20}$  vertoonden geen van beiden eenige neiging tot schiften; na 3 dagen staan in cylinders bij  $16^\circ$  à  $18^\circ$  bedroeg de bezinking der caseïne slechts resp. 1 % en 2 %. Om mogelijk toch nog bestaande kleine verschillen te kunnen waarnemen, werd na toevoeging van 20 % water de bezinking der caseïne nogmaals bepaald; zij bedroeg toen na 2 dagen staan bij  $16^\circ$  à  $18^\circ$  bij  $K_{12}$  en  $K_{20}$  resp.  $3\frac{1}{2}$  % en 6 %, na 3 dagen 5 % en 8 %. Eene herhaling van deze proef met anderen room gaf gelijksoortige uitkomsten. De warme zuring gaf dus karnemelk,

die bij normaal watergehalte volstrekt niet schiftend was te noemen, doch bij extra-watertoevoeging meer neiging verkreeg tot oppervlakteschifting dan de karnemelk van koud gezuurden room bij dezelfde behandeling.

Het schijnt, dat bij de snelle zuring bij 20° de caseïnedeeftjes in iets minder volledige zwellingstoestand geraken dan bij de langzame zuring bij 12°. Hier zou dus iets dergelijks, doch op veel minder intensieve wijze, kunnen plaats grijpen, wat bij de (in de inleiding genoemde) door KNAYSER bestudeerde zuring van ondermelk bij 37° zou geschieden en de oorzaak zou zijn van een ongelijkmatige, niet stevige wrongel en een dikwijls schiftende „karnemelk”.

Over den invloed van een hooge karntemperatuur werden in de boterfabriek der Proefzuivelboerderij twee proeven genomen. Bij de eerste proef, in April, werd de van stalmelk afkomstige room met 15 % vet gezuurd bij 12° à 13° tot een zuurheidsgraad van 66 N/10 (voor 20 % vet). Elk der beide tuimelkarns werd met 45 L. room gevuld, door regeling van de temperatuur van het water, dat ook tijdens het karnen tusschen de dubbele wanden der karns door stroomde, kon het karnen van de eene hoeveelheid room bij 12.5°, van de andere bij 17° geschieden en wel met dezelfde snelheid. Tegen het eind van het karnproces werd 4½ L. water ingespoeld. De karntijd bedroeg 55 min. bij 12.5° en 21 min. bij 17°.

Bij de tweede proef werd weidemelk (van Juni) gebruikt; de room met 17½ % vet werd bij oplopende temperatuur tusschen 8° en 13° gezuurd tot 69 N/10 (ber. voor room met 20 % vet).

Verder werd precies als bij de eerste proef gehandeld, dus bij 12½° en 17° gekarnd. De karntijden bedroegen hier 92 en 40 minuten. In onderstaande tabel XII zijn eenige cijfers verzameld, aangevende het gehalte, de bezinking bij staan en bij centrifugeeren en de valtijden der van de bij 12½° en 17° gekarnde roomen afkomstige karnemelken K<sub>12</sub> en K<sub>17</sub>.

TABEL XII.

Invloed karntemperatuur.	Proef I.		Proef II.	
	K <sub>12</sub> .	K <sub>17</sub> .	K <sub>12</sub> .	K <sub>17</sub> .
Vetgehalte der karnemelk. . . . .	0.35 %	0.50 %	0.39 %	0.48 %
Vetvrije droogrest. . . . .	6.92 %	6.81 %	7.02 %	7.02 %
Bezinking na 2 dagen bij resp. 18° (I) en 20 (II) . . . . .	3 %	6 %	4 %	5 %
Bezinking bij centrifugeeren, direct na 't karnen . . . . .	34 %	35 %	35 %	35 %
Idem, na 3 dagen bewaren bij 17° . . .	35 %	45 %	24 %	27 %
Valtijden bij 17° (glaskogeltje v. 122 mgr.) direct na mengen . . . . .	3.2 sec.	3.2 sec.	3.7 sec.	3.7 sec.
Idem, na 30 min. staan der karnemelk in de valbuis. . . . .	4.7 sec.	3.8 sec.	7.2 sec.	6.6 sec.

Hieruit blijkt, dat de bezinking in 48 uur bij  $K_{17}$  het grootst is. Voor de beoordeeling der resultaten van het centrifugeeren in buizen mogen alleen telkens die twee cijfers vergeleken worden, die bij dezelfde snelheid en temperatuur der omgeving zijn verkregen, dus de twee bij gelijktijdig centrifugeeren gevonden cijfers voor  $K_{12}$  en  $K_{17}$  van één proef, op één bepaalden dag.

We zien dan, dat direct na het karnen er zoo goed als geen verschil bestaat, maar dat 3 dagen later de bezinking na centrifugeeren van  $K_{17}$ , vooral bij proef I, die van  $K_{12}$  overtreft. Er treden dus schijnbaar op den duur bij  $K_{17}$  veranderingen op in de structuur van de caseïne, die eene snellere bezinking bevorderen; in verband met wat vroeger is gezegd over den invloed van den zuurheidsgraad, kan mogelijk ook de verhooging hiervan de zwellingstoestand der caseïne van  $K_{17}$  in mindere mate gunstig beïnvloeden dan van  $K_{12}$ , waardoor de bezinkingsneiging bij  $K_{17}$  minder wordt geremd dan bij  $K_{12}$ .

Uit de cijfers voor de valtijden zien we, dat de inwendige weerstand in de pas dooreengemengde karnemelk bij  $K_{12}$  en  $K_{17}$  gelijk is; nadat echter bij staan der karnemelk in de valbuizen vlokvorming was opgetreden bleek bij beide proefnemingen de inwendige weerstand bij  $K_{17}$  duidelijk minder te zijn toegenomen dan bij  $K_{12}$ ; ook dit wijst op een iets minder gunstige structuur der caseïne van  $K_{17}$ .

Voor het beproeven van de neiging tot inwendige schifting werd direct na het karnen met elke karnemelk een melkflesch gevuld. Bij proef I bleek  $K_{12}$  na 48 uur bewaren bij 17 à 18° inwendig geschild te zijn, terwijl  $K_{17}$  alleen een geringe oppervlakteschifting vertoonde. Bij de proef II waren beide karnemelken na 24 uur staan bij 18 à 20° inwendig geschild, doch  $K_{12}$  het sterkst, met opstijging der caseïne. Vermoedelijk zal de van den koudst gehouden room afkomstige karnemelk onmiddellijk na karnen meer gas bevat hebben dan de karnemelk van 17° en zal dit de oorzaak geweest zijn van de iets grootere schiftingsneiging van  $K_{12}$ .

Overigens zijn de gevonden verschillen, die in de eigenschappen der karnemelk optreden, zoowel door wijzigingen in de zurings- als in de karn-temperatuur, ten slotte zoo weinig belangrijk gebleken, dat de vraag of er in bepaalde gevallen schiftingsverschijnselen zijn te verwachten, meer van andere factoren, zooals de verdere behandeling der karnemelk, zal afhangen dan (binnen bepaalde grenzen) van de zurings- en de karn-temperatuur.

Zooals in de „Inleiding” is vermeld, heeft men in Amerika getracht de schifting in de z.g. „handelskarnemelk” te beletten door toevoeging van gelatine, meestal aan de nog niet gezuurde ondermelk.

Enkele door mij uitgevoerde proeven hadden tot resultaat, dat het inderdaad mogelijk bleek ook bij roomkarnemelk door toevoeging van gelatine schifting te voorkomen in eenige gevallen, waar zonder die toevoeging sterke schifting optrad. Tevens bleek echter, dat de toe te voegen hoeveelheid gelatine vrij groot moest zijn; bij toevoeging van minder dan 5 gram per Liter was vooral bij eenigszins hogere temperatuur het resultaat onvoldoende; soms was zelfs deze hoeveelheid nog te gering.

Het zal dus de vraag zijn of voor eene toepassing van dit middel in het

groot, de niet onbelangrijke kosten en de kans op achteruitgang van reuk en smaak der karnemelk niet een beletsel zullen zijn.

De voornaamste conclusies uit het geheele voorgaande onderzoek zijn wel de volgende:

*Oppervlakte-schifting* zal in vele gevallen een gevolg zijn van vroegere inwendige schifting, waardoor de structuur der caseïne ongunstig werd beïnvloed. Verder kan een te laag caseïnegehalte, ontstaan door natuurlijke oorzaken of door te ruime inspoeling of beide, de oorzaak zijn. Ook eene dehydratatie der caseïne door te hooge temperatuur werkt het gebrek in de hand, evenals wanneer door eene onvoldoende of te snelle roomzuring een goede zwellingstoestand der caseïne niet werd bereikt.

*Inwendige schifting* ontstaat door samenwerking van verschillende factoren, namelijk de aanwezigheid van veel fijn verdeelde gasbelletjes in de karnemelk, gepaard gaande met eene krachtige vlokvorming. Een betrekkelijk hooge temperatuur der karnemelk vermeerderd en vergroot de gasbelletjes en bevordert sterk de vlokvorming, werkt dus krachtig mee tot het ontstaan van het gebrek. Alle maatregelen, die het gasgehalte der karnemelk beperken of verminderen (zooals zooveel mogelijk uitsluiten van gasvormende microörganismen, voldoende roomzuring, het roeren en over een koeler leiden der karnemelk, het vermijden van pompen, enz.) en die de vlokvorming tegen houden (lage temperatuur), doen ook de kans op inwendige schifting afnemen.

## Ueber Entmischungserscheinungen in der Buttermilch.

(Zusammenfassung obiger Ausführungen).

Es wurde eine Untersuchung eingestellt nach den verschiedenen Umständen, unter welchen die mit sichtbarer Serumabscheidung verbundenen groben Entmischungserscheinungen dann und wann in der Buttermilch zustande kommen und wie derer Entstehung zu erklären ist.

In jeder aus gesäuertem Rahm stammenden Buttermilch besteht schon bei normaler Temperatur eine Neigung zur Absonderung an der Oberfläche einer geringen Serumschicht in Folge einer langsamen Senkung der Kaseins. Erst wenn diese Erscheinung in verhältnismässig kurzer Zeit und in bedeutendem Masse eintritt, können wir reden von einer „oberflächlichen Entmischung“ der Buttermilch.

Eine andere Erscheinungsform dieses Fehlers, welche, wenn sie in Flaschenbuttermilch entsteht, dieser ein sehr schlechtes, fast verdorbenes Ansehen verleiht, ist die „innere Entmischung“, die bei frischer Buttermilch in kurzer Zeit und bei gewöhnlicher Temperatur eintreten kann, ohne dass von irgend einer Zersetzung die Rede zu sein braucht. Sie kennzeichnet sich durch eine grobe unregelmässige Zerteilung der Buttermilch in Kaseinaggregaten und Serum, manchmal auch nur durch eine Aufsteigung der unteren Kaseinschichten nebst Serumabscheidung unten im Behälter. Ist die innere

Entmischung, schon frühzeitig und unvermerkt vielleicht, in der sich noch in den Gefäßen befindenden Buttermilch eingetreten und wird dieselbe nach Durchmischung in Flaschen gebracht, so wird darin, wenn etwa auch keine innere, doch jedenfalls eine oberflächliche Entmischung entstehen. Dies ist eine Folge der grösseren Senkungsneigung der Kaseinteilchen, derer ursprünglich feine und lockere Struktur beeinträchtigt worden war durch die vorhergehende innere Entmischung der Buttermilch.

Oberflächliche Entmischung kann weiter entstehen durch eine unzeitige Unterbrechung der Rahmsäuerung, in Folge dessen ein weniger vollständiger Schwellungszustand des abgeschiedenen Kaseins erreicht wird als bei normaler Säuerung der Fall gewesen wäre. Auch kann die oberflächliche Entmischung eintreten durch eine zu niedrige Kaseinkonzentration (Wasserzusatz; letzt ablaufende Buttermilch u.s.w.) und durch eine Schädigung des Kaseinstrukturen in Folge einer zu hohen Aufbewahrungstemperatur der Buttermilch.

Der Säuregrad der Buttermilch hat für die Entstehung und die Intensität der Entmischungserscheinungen praktisch keine Bedeutung.

In engem Zusammenhang mit dem inneren Entmischungsvorgang steht eine merkwürdige, aber bisher wenig beachtete Erscheinung, die bei jeder normalen Buttermilch zu beobachten ist, nämlich die Entstehung einer „spontanen Flockung“. Diese kennzeichnet sich durch eine allmähliche, deutlich sichtbare Ergrobung der Struktur und eine bedeutende Zunahme des inneren Widerstandes der Buttermilch. Das Prozesz ist umkehrbar, nach Durchmischung stellt sich die ursprüngliche Struktur und der anfängliche Widerstand sofort wieder ein; beim Stehen beginnt die Flockung von neuem. Bei höherer Temperatur verläuft die spontane Flockung kräftiger als bei niedriger und bei 0° C. findet so gut wie keine Flockung statt. Bei Bewahrung der Buttermilch bei Temperaturen über 20° C. nimmt das Flockungsvermögen schnell ab; schon bei niedrigerer Temperatur ist dieses auf die Dauer bemerkbar. Bei 0° C. behält dagegen die Buttermilch sehr lange das Vermögen um nachher bei Zimmertemperatur Flockung zu zeigen. Der Säuregrad hat sehr wenig Einfluss auf diese Erscheinung.

Bei der Untersuchung einer grossen Zahl von Fällen einer absichtlich veranlaszten inneren Entmischung zeigte sich nun, dass hierfür immer eine kräftige spontane Flockung in der Buttermilch notwendig war. Es konnte festgestellt werden, dass innere Entmischung eintraf in sofort aus dem Butterungsfasz in Milchflaschen gezapfter, ziemlich schäumender Buttermilch, ebenfalls in Buttermilch welche aufgepumpt wurde unter Mitführung von Luft. Auch zeigte sich die Entmischung bei Buttermilch, welche erhalten war bei einem in der Bakteriologischen Abteilung des hiesigen Instituts ausgeführten Versuch mit Rahm der gebuttert wurde nach Säuerung mit einem, absichtlich durch Laktose-vergärende Hefe verunreinigten, Säureerreger.

Diese Ergebnisse gaben Anlass zur Vermutung, dass der Gasgehalt der Buttermilch hierbei ein wichtiger Faktor war; eine Reihe von Versuchen, wobei absichtlich fein zerteiltes Gas in die Buttermilch gebracht wurde, bestätigten diese Vermutung. Bei allen diesen Versuchen entstand nur dann eine innere Entmischung, wenn ausserdem eine beträchtliche spontane

Flockung stattfinden konnte, wodurch das Gas festgehalten wurde, und in Folge dessen Bewegung nach oben die Serumabscheidung eintrat.

Wie aus einer volumetrischen und einer microscopischen Untersuchung hervorging, findet die innere Entmischung, welche in der Buttermilch entsteht, die von ungenügend gesauertem Rahm herrührt, und diejenige, welche nach sehr schneller Butterung eintritt, ihre Ursache ebenfalls in einem abnorm groszen Gasgehalt. Im Falle des zu wenig gesäuerten Rahmes ist überdies der unvollständige Schwellungszustand des Kaseins förderlich für dessen manchmal eintretendes Emporsteigen. Einige vergleichenden Versuche zeigten, dasz weder ziemlich grosze Unterschiede in der Säuerungstemperatur, noch in der Butterungstemperatur des Rahmes, Einfluss von einiger Bedeutung aus zu üben vermögten auf das Zustande kommen einer oberflächlichen oder inneren Entmischung der Buttermilch.

Aus alledem geht hervor, dasz oberflächliche Entmischung in vielen Fällen vermieden werden kann durch Beachtung eines hinreichenden Kaseingehaltes, durch Vorbeugung höherer Temperaturen und ungenügender Rahmsäuerung. Innere Entmischung ist gewisz manchmal zu verhindern durch allerlei Maszregeln, welche den Gasgehalt der Buttermilch beschränken oder vermindern, oder welche die spontane Flockung hemmen. Solche sind: der Ausschluss gaserregender Microorganismen, genügende Rahmsäuerung, lange fortgesetztes Rühren oder das über einen Kühler Führen der Buttermilch, Vermeidung des Pumpens und Innehaltung niedriger Temperaturen.

---